UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1954 — N° 379

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE LA RÉACTION D'AGGLUTINATION SPÉCIFIQUE

Travail effectué au Laboratoire de Chimie biologique et médicale
et au Laboratoire de Sérologie
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ
Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 8 Décembre 1954

PAR

Irène-Alice CAPDEJELLE, née CAZENAVE

PHARMACIEN
DIPLÔMÉE DE SÉROLOGIE

Née à Arthez-de-Béarn (Basses-Pyrénées), le 12 Août 1929.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*
GIRARD, professeur.....
PAUTRIZEL, professeur..... *Juges*
NEUZIL, maître de conférences agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1954

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1954 — N° 379

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE LA RÉACTION D'AGGLUTINATION SPÉCIFIQUE

Travail effectué au Laboratoire de Chimie biologique et médicale
et au Laboratoire de Sérologie
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.

THÈSE POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ

Mention « PHARMACIE »

Présentée et soutenue publiquement le Mercredi 8 Décembre 1954

PAR

Irène-Alice CAPDEJELLE, née CAZENAVE

PHARMACIEN

DIPLÔMÉE DE SÉROLOGIE

Née à Arthez-de-Béarn (Basses-Pyrénées), le 12 Août 1929.

Examinateurs de la Thèse :

MM. TAYEAU, professeur..... *Président*

GIRARD, professeur.....

PAUTRIZEL, professeur..... .... } *Juges*

NEUZIL, maître de conférences agrégé .....

BORDEAUX

IMPRIMERIE E. DROUILLARD

3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

—

1954

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.
DOYEN : M. PORTMANN. — **ASSESSEUR** : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PÉRY, CHARRIER, DUBREUIL, CRUCHETP ERRENS

PROFESSEURS :

	MM.
Clinique médicale	CREYX / BROUSTET
Clinique chirurgicale	PAPIN / MASSÉ
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE
Clinique gynécologique	MAGENDIE
Anatomie pathologique et microscopie clinique	DE GRAILLY
Anatomie	DUFOUR
Anatomie générale et histologie	MAYER
Hygiène et Clinique de la tuberculose	PIÉCHAUD
Médecine légale et médecine du travail	DERVILLÉE
Electroradiologie et clinique d'électricité médicale.	REBOUL
Chimie	MESNARD
Matière médicale	GOLSE
Pharmacie	VITTE
Physiologie	FABRE
Clinique médicale des maladies des enfants.	FONTAN
Zoologie et parasitologie	SIGALAS

	MM.
Pathologie générale et expérimentale	SARIC
Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	POUYANNE
Clinique médicale et des maladies infectieuses	AUBERTIN
Chimie biologique et médicale	TAYEAU
Physique médicale et pharmaceutique	PIFFAULT
Médecine coloniale et Clinique des maladies exotiques	BONNIN
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JOULIA
Clinique des maladies des voies urinaires	DARGET
Clinique des maladies nerveuses et mentales	DELMAS-MARSALET
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN
Toxicologie et hygiène appliquée	CASTAGNOU
Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ
Botanique et cryptogamie	GIRARD
Thérapeutique	F.-J.TRAISSAC
Hydrologie thérapeutique et climatologie	DUBARRY

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL :

M. BLANQUET (Section Pharmacie)

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. MAHON (Obstétrique), PAUTRIZEL (Parasitologie)

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.
Physiologie	Mlle ROUGIER
Bactériologie	MOUSTARDIER
Anatomie pathologique	LÉGER
Anatomie	RIGAUD
Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE

	MM.
Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER / QUILICHINI
Pharmacie (3e Section)	CAZAUX
Biochimie médicale	NEUZIL
Pathologie expérimentale	FAURE

CHARGÉ DES FONCTIONS DE MAITRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ :

M. STOLL (Histologie)

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.
Médecine générale	BERGOUIGNAN / LENG-LÉVY / MORETTI / LAVIGNOLLE
Chirurgie générale	LAUMONIER / CHAVANNAZ / VILLAR / TINGAUD / DEPAULIS
Obstétrique	CHASTRUSSE / FAUGÈRE

	MM.
Ophtalmologie	BESSIÈRE
Oto-rhino-laryngologie	DESPONS
Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT
Pédiatrie et puériculture	VERGER
Médecine légale et médecine du travail	L'ÉPÉE
Electro-radiologie	LACHAPÈLE
Odonto-stomatologie	BENOIT
Urologie	LANGE

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.
Médecine opératoire	LAUMONIER
Accouchements	CHASTRUSSE
Puériculture	VERGER / PÉRY
Législation pharmaceutique	COUSTOU
Anatomie	CABANIÉ
Cryptogamie	LAUBIE

	MM.
Obstétricie sociale	MAHON
Organographie et physiologie végétale	TEMPÈRE
Chimie biologique analytique	MARQUEVIELLE
Chimie analytique	BABIN
Pathologie chirurgicale	LAUMONIER / VILLAR
Zoologie pharmaceutique	BAILENGER
Physiologie	BENELLI

Le Secrétaire principal de la Faculté : GAYRAUD.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK

A MON PÈRE,

A MA MÈRE

Faible témoignage de ma grande affection et de ma profonde reconnaissance.

A MON MARI

A MA GRAND'MÈRE

A MON FRÈRE

A MES BEAUX-PARENTS

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOS MAITRES
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX

A MES CAMARADES DU LABORATOIRE
DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE BORDEAUX

A NOS JUGES

MONSIEUR LE DOCTEUR E. NEUZIL

MAÎTRE DE CONFÉRENCES AGRÉGÉ DE BIOCHIMIE MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

Témoignage de profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. PAUTRIZEL

DOCTEUR ÈS SCIENCES

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL DE SÉROLOGIE

EXPERT DE L'ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ

CROIX DE GUERRE 1939-1945

OFFICIER D'ACADÉMIE

Témoignage de notre très vive reconnaissance pour le bienveillant intérêt qu'il nous a manifesté.

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. GIRARD

PROFESSEUR DE BOTANIQUE ET DE CRYPTOGAMIE

DIRECTEUR DE L'INSTITUT BOTANIQUE DE TALENCE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

OFFICIER DE L'INSTRUCTION PUBLIQUE

OFFICIER DU MÉRITE AGRICOLE

OFFICIER DU MÉRITE TOURISTIQUE

Qui a bien voulu nous faire l'honneur de siéger dans notre jury. Hommage respectueux.

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. TAYEAU

PROFESSEUR DE CHIMIE BIOLOGIQUE ET MÉDICALE

DOCTEUR ÈS SCIENCES

OFFICIER D'ACADÉMIE

Avec l'expression de notre profonde gratitude pour l'extrême bienveillance qu'il nous a toujours témoignée et pour le grand honneur qu'il nous a fait en nous admettant dans son laboratoire où il nous a constamment prodigué ses directives éclairées.

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE LA RÉACTION D'AGGLUTINATION SPÉCIFIQUE

INTRODUCTION

Les phénomènes immunitaires, auxquels MORGENROTH ne reconnut jadis aucun caractère chimique, commencent à s'éclairer grâce aux progrès de la physicochimie et de la biochimie. La nature globulinique des anticorps et les connaissances acquises sur la structure et la réactivité des protéines permettent de concevoir aujourd'hui le mécanisme de la réaction antigène-anticorps.

Dans le domaine de cette réaction, bien des travaux ont été réalisés... la plupart des recherches effectuées ont porté sur la réaction de précipitation spécifique, facile à réaliser.

Beaucoup de composés chimiques réagissant sur l'anticorps modifient sa réactivité; dans de nombreux cas, cette réactivité s'estompe ou disparaît (action du formol, du monobromacétate, du cétène, de l'isocyanate, de la ninhydrine sur les immunsérums de cheval, par exemple); dans d'autres cas, elle se trouve au contraire renforcée (action de la ninhydrine ou du β-naphto-quinone-4-sulfonate chez le lapin). L'interprétation des phénomènes observés s'avère fort délicate ! Les hypothèses émises à ce sujet se sont souvent révélées inexactes !

Une confrontation des différents systèmes antigène-anticorps et des études sur divers types d'anticorps peuvent se révéler fructueuses; un exemple, emprunté à de récentes recherches, justifiera ce point de vue.

Un anticorps de lapin traité par la ninhydrine, dans des conditions déterminées, flocule beaucoup plus rapidement lorsqu'on le met en présence de son antigène [204, 205]. Un anticorps de cheval, traité dans les mêmes conditions, flocule au contraire beaucoup plus lentement [204, 205]. Or, la ninhydrine diminue la solubilité des euglobulines qui renferment les anticorps chez le lapin, et augmente, en revanche, celle des pseudo-globulines, où se trouvent les anticorps chez le cheval. On pouvait alors expliquer l'action différente de la ninhydrine par une diminution de la solubilité des anticorps chez le lapin (entraînant une précipitation plus rapide) et une augmentation chez le cheval (provoquant une précipitation plus tardive) [203]. Une étude mettant en œuvre, non plus la réaction de précipitation spécifique, mais la réaction d'hémolyse, devait infirmer cette hypothèse. La vitesse d'hémolyse d'un système immunologique est augmentée ou diminuée sous l'influence de la ninhydrine, suivant que l'immunsérum mis en jeu provient du lapin ou du cheval [216]. Or, on ne saurait faire intervenir la notion de solubilité dans l'hémolyse spécifique ! La ninhydrine n'agit donc pas en modifiant la solubilité des anticorps.

Cet exemple, puisé parmi tant d'autres, montre que le mécanisme de la réaction antigène-anticorps peut s'éclairer à la lumière de nouvelles recherches mettant en jeu de nouveaux types d'anticorps.

***

Lorsque nous sommes venue lui demander un sujet de travail, M. le Professeur Tayeau nous proposa d'étudier les adjuvants de la réaction d'agglutination spécifique; cette étude rentre dans le cadre des travaux d'immunochimie effectués depuis quelques années au laboratoire de chimie biologique et médicale de la Faculté. Nous désirons avant tout nous acquitter d'une dette de reconnaissance en ren-

dant un particulier hommage à M. le Professeur TAYEAU qui nous a continuellement guidée au cours de nos recherches : il nous a fait profiter de ses conseils éclairés et n'a ménagé ni son temps, ni sa peine, nous permettant ainsi de mener à bien ce travail. Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.

Nous ne saurions trop remercier M. le Professeur PAUTRIZEL qui nous a guidée dans nos recherches sur l'hémagglutination indirecte et qui, bien souvent, nous a fait bénéficier de ses connaissances.

Après un très bref rappel sur les antigènes et les anticorps, nous décrivons la réaction d'agglutination spécifique et nous discutons les principaux facteurs l'influençant (première partie). Nous décrivons ensuite nos recherches et nous en discutons les résultats (deuxième partie).

PREMIÈRE PARTIE

QUELQUES RAPPELS SUR LES ANTIGÈNES, LES ANTICORPS ET LA RÉACTION D'AGGLUTINATION

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LES ANTIGÈNES, LES DIVERS TYPES D'ANTICORPS ET LES RÉACTIONS ANTIGÈNE-ANTICORPS

I. — LES ANTIGÈNES (*)

Toute substance pénétrant dans l'organisme et susceptible de créer l'immunité, c'est-à-dire d'amener l'élaboration d'anticorps témoins d'un processus de défense, est un antigène.

Les antigènes peuvent être représentés soit par des éléments figurés, soit par des substances, souvent protéidiques, et étrangères à l'organisme agressé.

Le terme antigène correspond à deux propriétés :

a) Susciter la formation d'anticorps;

b) Réagir avec les anticorps correspondants.

Certaines substances ne possèdent que le second caractère; LANDSTEINER les a désignées sous le nom d'*haptène*. Une fois combinés à une protéine, ces haptènes acquièrent la première propriété et deviennent des antigènes.

Bien qu'étant la plupart du temps de nature protéidique, il existe néanmoins des antigènes non protidiques, de nature glucidique (HEIDELBERGER, CAMPBELL) ou glucido-lipidique (BOIVIN, MORGAN).

(*) Revues générales sur les antigènes [22, 135].

En général, une substance, pour être antigénique, doit présenter un poids moléculaire assez élevé (*).

La spécificité de l'antigène se trouve étroitement liée à sa structure chimique; elle est supportée par une fonction ou un groupe de fonctions (Landsteiner) qui constitue le *groupement déterminant*. La spécificité de ce groupement est extrêmement étroite et peut être liée, dans certains cas, par exemple, à une simple configuration stérique.

Dans bien des cas, groupement déterminant et haptène se confondent et correspondent à une même entité : certains haptènes ont livré les secrets de leur constitution et l'on distingue des haptènes glucidiques (Heidelberger et Avery), protidiques (Ivanovics) et lipidiques (Anderson, Machebœuf, Mme Lévy et Mlle Faure).

II. — LES ANTICORPS (**)

L'organisme élabore des anticorps chaque fois qu'il reçoit des antigènes; cependant, les anticorps peuvent parfois préexister (immunité naturelle).

Les anticorps, libérés dans le sang circulant, sont des γ-globulines (Tiselius et Kabat). Comme les γ-globulines, ils sont élaborés par les lymphocytes (Erich et Harris; Dougherty, Chase et White) et peut-être par les plasmocytes (Fagraeus); le mécanisme de leur libération est d'ordre neuro-endocrinien (Dougherty, Chase et White).

La différence entre une γ-globuline normale et une γ-globuline - anticorps ne peut pas être saisie par nos techniques physicochimiques; elle présente seulement un caractère immunologique; seule la γ-globuline - anticorps est susceptible de réagir avec le groupement déterminant

(*) Récemment, le pouvoir antigénique a été reconnu à diverses substances de poids moléculaire bas (Loiseleur), mais les conditions mises en œuvre, pour susciter avec ces substances la formation d'anticorps, restent très discutées et il est peut-être prématuré de classer ces substances parmi les antigènes vrais [131].

(**) Revues générales sur les anticorps [136, 137].

de l'antigène correspondant. La partie « active » de l'anticorps, celle qui lui assure sa spécificité, est désignée sous le nom de « motif spécifique ». Il semblerait que les motifs spécifiques occupent une surface limitée de la molécule d'anticorps (Northrop).

III. — LES RÉACTIONS ANTIGÈNE - ANTICORPS (*)

La présence d'anticorps dans le sang confère au sérum des propriétés immunologiques que l'on peut mettre en évidence de bien des façons : neutralisation de toxines, lyse cellulaire, lyse bactérienne, précipitation de toxines ou d'antigènes variés, agglutination de cellules et de bactéries, etc. On conçoit ainsi que les anticorps aient pu être désignés par les noms d'antitoxines, lysines, bactériolysines, précipitines, agglutinines... Toutes ces étiquettes ne visent qu'une propriété déterminée et l'on sait aujourd'hui que toutes les réactions immunologiques relèvent d'un même processus (conception unitaire des anticorps de Zinsser [241]). On se rendra aisément compte de cette notion en envisageant l'anticorps antidiphtérique : lorsque celui-ci est injecté en vue de protéger l'animal vis-à-vis des effets nocifs de la toxine, on peut le considérer comme une antitoxine; par ailleurs, ce même anticorps s'avère capable de floculer *in vitro* en présence de la toxine ou de l'anatoxine; dans ce cas, il est alors une précipitine !

Malgré cela, la classification des anticorps est souvent liée aux différents aspects de la réaction antigène-anticorps.

A. — Réaction de neutralisation spécifique

La toxine qui réagit avec l'antisérum correspondant n'est pas détruite; elle forme simplement avec les anticorps un complexe inoffensif.

(*) Revues générales sur les réactions antigène - anticorps [25, 31, 106, 118, 141, 155].

B. — Réaction de sensibilisation et de bactériolyse

On a souvent désigné sous le nom de sensibilisatrice des anticorps capables de sensibiliser considérablement le germe antigène vis-à-vis d'une substance particulière, fortement thermolabile, l'*alexine* (Bordet).

Sous l'influence des sensibilisatrices et de l'alexine, les bactéries subissent une altération que le microscope met facilement en évidence et qui leur est fatale. Cette altération, lorsqu'elle intéresse les bactéries, constitue la bactériolyse (Pfeiffer).

C. — Réaction d'hémolyse spécifique

L'animal, auquel une suspension d'hématies d'espèce différente a été injectée, élabore des anticorps vis-à-vis de ces hématies. Ces anticorps représentent une sensibilisatrice comparable à celle précédemment envisagée; ils sensibilisent les hématies injectées à l'action destructrice de l'alexine. Sous cette action, les hématies sont lysées; la réaction antigène - anticorps se manifeste donc par le phénomène d'hémolyse.

D. — Réaction de précipitation spécifique

L'injection d'une protéine étrangère provoque chez l'animal l'apparition d'anticorps précipitants. Lorsque ces derniers se trouvent mis en présence des protéines - antigènes, un précipité apparaît : les groupements déterminants de l'antigène se sont combinés aux motifs spécifiques de l'anticorps pour former un complexe antigène - anticorps; ce dernier précipite si la concentration relative des deux constituants ne sort pas de certaines limites (phénomène de zone).

E. — Réaction d'agglutination spécifique

L'addition d'une suspension de microbes au sérum d'un animal immunisé contre ces germes, amène l'agglutination des bactéries : celles-ci, au lieu de rester disséminées dans le milieu, s'agglomèrent en paquets, puis en flocons.

La réaction d'agglutination spécifique faisant l'objet de notre travail, nous lui réservons un chapitre spécial.

CHAPITRE II

LA RÉACTION D'AGGLUTINATION SPÉCIFIQUE

I. — HISTORIQUE

C'est à Charrin et Roger que revient le mérite d'avoir décrit pour la première fois, en 1889, la réaction d'agglutination spécifique. Ces auteurs ont montré que le sérum d'un animal immunisé se conduit différemment d'un sérum normal vis-à-vis du microbe antigène. « Ensemencé dans le sérum d'un lapin neuf, le bacille pyocyanique se multiplie en communiquant au liquide un trouble uniforme; ensemencé dans le sérum d'un lapin vacciné contre ce germe, il se développe en formant des grumeaux qui se déposent tandis que le liquide reste limpide; on constate au microscope la tendance très prononcée des éléments microbiens à se grouper; ils sont immobiles et s'enchevêtrent en amas compacts (Bordet) [23]. »

Après confirmation et généralisation des expériences de Charrin et Roger (Metchnikoff, Issaeff et Ivanoff), Bordet puis Gruber et Durham démontraient l'extrême sensibilité et l'étroite spécificité du phénomène.

Les études sur l'agglutination, effectuées depuis ces premières recherches, ont montré qu'il existe parfois des agglutinines « naturelles » : Landsteiner, en 1900, a décou-

vert chez l'Homme des agglutinines vis-à-vis de certains types d'hématies; on sait l'importance de cette constatation qui a conduit à la notion de groupes sanguins. Le sérum d'un homme normal est souvent doué de propriétés agglutinantes vis-à-vis de certaines bactéries (colibacille, bacille typhique, etc.) (Bordet, Gruber, Durham); les sérums de poule et d'oie agglomèrent très fortement les globules de lapin (Bordet [24]), alors que le sérum de pigeon ne présente pas cette propriété; Bordet a pu noter que, bien souvent, le pouvoir agglutinant évolue parallèlement au pouvoir hémolytique. Ces travaux ont été étendus par la suite à de nombreuses espèces animales et aux oiseaux en particulier (Paille et Hars [169].)

II. — FACTEURS INFLUENÇANT LA RÉACTION D'AGGLUTINATION

A. — Electrolytes

L'influence jouée par les sels minéraux du milieu est absolument primordiale [168, 21, 239, 179, 180, 171, 228, 153]. Bordet [23] a pu montrer, en effet, qu'en l'absence de sel, le phénomène d'agglutination ne se produit plus : une suspension des vibrions cholériques dans l'eau physiologique, additionnée de sérum anticholérique, s'agglutine; si, à ce moment, l'ensemble est soumis à la centrifugation, et si le liquide surnageant éliminé est remplacé par de l'eau physiologique, le précipité remis en suspension ne tarde pas à laisser apparaître de nouveau des agglutinats; mais si, au lieu de remplacer le liquide surnageant par de l'eau physiologique, on le remplace par de l'eau distillée, le précipité remis en suspension ne laisse plus apparaître d'agglutination, et les vibrions restent uniformément disséminés; il suffit alors d'ajouter au milieu un peu de chlorure de sodium pour voir réapparaître l'agglutination.

Le chlorure de sodium peut être aisément remplacé par

d'autres sels, et en particulier par les iodures, bromures, citrates et phosphates de métaux alcalins ou alcalino-terreux (Joos, Friedberger) ; les sels de lithium, césium, rubidium, magnésium, calcium, strontium et baryum ont été particulièrement bien étudiés (Levin [125]).

Il existe une concentration saline optimum permettant l'agglutination dans les meilleures conditions; au delà d'une certaine limite de concentration, l'agglutination s'estompe et finit même par disparaître (Landsteiner et Welecki [120]).

L'influence jouée par les électrolytes sur la réaction d'agglutination peut s'expliquer : on admet généralement que la stabilité des émulsions (ou des suspensions) est due à la charge électrique des particules et à leur affinité pour l'eau; or, les ions des électrolytes s'avèrent capables de neutraliser ces charges et ainsi favorisent l'agglutination.

Ce n'est là qu'une conception, et bien d'autres opinions ont été émises sur ce point; nous y reviendrons plus loin (voir page 27), à propos des théories sur la réaction antigène - anticorps.

B. — Température

Le facteur température intervient sur la réaction d'agglutination spécifique. Kossovitch et Canat [111], travaillant sur l'agglutination des hématies, ont pu montrer que, si l'on effectue l'agglutination à la température ordinaire et que l'on élève ensuite graduellement cette température, il se produit, dès 40°, une dissociation du complexe agglutinogène - agglutinine et cette dernière est libérée. Si la température continue à monter, on constate que, vers 65°, le pouvoir agglutinant du sérum s'est modifié avant de disparaître complètement aux environs de 70°.

Opérant avec le système bacille de Flexner - antisérum correspondant, Da Costa Cruz [44] a observé des phénomènes comparables.

Enfin, R. Ponder et E. Ponder [182] ont réalisé une étude systématique et très complète avec des hématies du groupe O R H et l'immunsérum correspondant; ils ont mis en évidence la diminution graduelle de l'agglutinabilité entre 50 et 56°, et l'inactivation dès que cette dernière température est atteinte.

Toutes ces constatations ont pu être confirmées par la suite [122, 64, 99].

C. — *p*H

L'agglutination spécifique ne peut se produire que dans certaines limites de *p*H : l'optimum se situe généralement aux alentours de 6 (Kossovitch et Canat [111], Seisen-Sai [196], Haupt [86], Marrack [141], Landsteiner [118], Kabat et Mayer [106]) et l'agglutination ne se produit plus ou presque plus au delà de 5 du côté acide, et de 8 du côté alcalin; l'absence d'agglutination en milieu acide devrait être rattachée au fait qu'antigène et anticorps présentent la même charge électrique et, par conséquent, ne pourraient pas entrer en réaction. Cependant, il existe des exceptions à cette règle, par exemple en ce qui concerne le bacille typhique qui présente une zone d'agglutination optimum située entre 4,7 et 3,3 dans le cas de l'antigène H, et entre 2,9 et 2,6 dans le cas de l'antigène Vi (Hirosi Ogonuki [93]).

Signalons que le phénomène d'agglutination se trouve notablement accéléré par l'agitation du milieu (voir Boyd [31]). Les courants de convection qui se produisent au sein des mélanges agissent de même.

D. — Hautes pressions

Les protéines du sérum sanguin subissent une dénaturation sous l'influence des ultrapressions : c'est ainsi que, soumis pendant quarante minutes à une pression de 10.000 atmosphères, le sérum se gélifie et les globulines sont

particulièrement atteintes. Si la pression n'est que de 6.000 atmosphères, le sérum est seulement opalescent (Basset, Machebœuf et Wollman).

Les globulines-anticorps n'échappent pas à cette règle, et les perturbations physicochimiques produites exercent leur répercussion sur les propriétés immunologiques des anticorps : c'est ainsi que, soumises à une pression de 4.000 atmosphères pendant vingt-quatre heures, les agglutinines anti-A et anti-B sont détruites (Boyd [30]) ; cette destruction devrait être produite, selon cet auteur, par une polymérisation des molécules protéidiques, que révèle un degré de sédimentation nettement plus accusé.

D'autres recherches portant sur des anticorps variés sont venues confirmer ces premiers résultats : des pressions moins élevées, de l'ordre de 700 kg, n'amènent pas la destruction des anticorps, mais retardent la formation des agrégats spécifiques (Campbell et Johnson) ; une pression de 5.000 kg, exercée pendant une heure et demi, réduit de moitié l'activité de l'agglutinine anti-Eberth d'un sérum humain (Bordet et Chome [26]).

Les anticorps « incomplets » résistent davantage aux ultrapressions : citons le cas de certains anticorps bloquants anti-Rh qui résistent intégralement à une pression de 4.500 atmosphères.

E. — Radiations

La photo-oxydation des sérums agglutinants (effectuée en présence d'éosine) détruit graduellement leur pouvoir agglutinant, mais ne semble pas transformer les agglutinines en anticorps incomplets (Boyd [29]) ; le phénomène a fait l'objet d'une étude détaillée de Tyler [223] : cet auteur attribue cette évolution à la transformation des anticorps en une forme univalente, ne comprenant plus par molécule qu'un seul groupement spécifique.

Les rayons X exercent également un effet destructeur sur

les agglutinines; les doses fractionnées se montrent plus efficaces qu'une dose massive (Clemmesen et Andersen [41]).

Les rayons ultraviolets produisent, à petites doses, un effet favorable sur l'agglutination : celle-ci se trouve augmentée (Gardner [68]). A forte dose, une action inverse se manifeste, due sans doute à une dénaturation des protéines bactériennes.

Les lumières de diverses longueurs d'onde n'exercent généralement aucune action sur le pouvoir agglutinant des immunsérums : il convient cependant de noter que la lumière bleue, à longueurs d'onde courtes, peut inhiber l'agglutination, à condition d'ajouter au sérum une substance photodynamique (Olivo [166]).

F. — Ultrasons

On sait que les ultrasons manifestent une action appréciable sur les pseudoglobulines sériques; cette constatation se répercute sur les phénomènes immunitaires : des pseudoglobulines, soumises à l'action des ultrasons, floculent beaucoup plus lentement lorsqu'elle sont mises en présence de l'immunsérum qui leur correspond, que les pseudoglobulines originelles (Perez et M^lle^ Sergent [176]). Selon ces auteurs, les ultrasons modifieraient l'architecture et aussi l'état d'hydratation de la molécule.

Les agglutinines, cependant, résistent à l'action des ultrasons (H. G. Van den Schrieck et G. Van Gordsenhoven [225]) mais, dans certains cas, les agglutinats se trouvent tellement dispersés qu'ils deviennent invisibles à l'œil nu (G. Warnecke [229]).

G. — Complément (Alexine)

Le complément retarde ou inhibe l'agglutination (Anthaose [3], Thjötta [220], Nema [152]). De plus, d'après ce dernier auteur, l'effet du complément dépend de l'avidité

de l'agglutinine : plus l'avidité est réduite, plus l'effet du complément est intense. Pour Mme Aubel-Lesure [6, 7], le complément, ou l'un de ses composants, inhiberait l'isohémagglutination et l'immunagglutination en recouvrant partiellement la surface des hématies à 37°.

III. — LE PHÉNOMÈNE DE ZONE

Le phénomène d'agglutination spécifique ne se produit plus lorsque les proportions relatives de l'antigène et de l'anticorps sortent de certaines valeurs : il existe une « zone » en dehors de laquelle il n'y a plus d'agglutination. Cette zone varie non seulement avec les antigènes, mais encore avec la nature des immunsérums mis en œuvre (Miles [146], Formaggio [66], Duncan [53]).

Lorsque dans un mélange la quantité d'anticorps est insuffisante, l'agglutination ne se produit pas, même lorsque l'antigène, des hématies par exemple, présente un pouvoir antigénique élevé. En revanche, un excès d'anticorps empêche également l'agglutination : on connaît d'ailleurs des sérums qui n'agglutinent pas à des concentrations élevées (1/5, 1/10), mais qui, après dilution, laissent apparaître l'agglutination (Eisenberg et Volk [1902]).

Cette disparition de l'agglutination, lorsque l'anticorps est en excès et trop concentré, signalée par Bordet et Sleewsky, a été appelée « agglutination paradoxale » ou « phase négative d'agglutination ».

Il résulte donc que, si l'on veut obtenir une agglutination maximum, il est indispensable que l'antigène et l'anticorps se trouvent dans des proportions relatives bien définies (De Lavergne, Fernier et Lévy [120], Rochaix, Sédaillan et Mme Clavel [187]). Le phénomène est inhibé en présence de l'excès de l'un où de l'autre des produits réagissant (Bori [28]).

Cette constatation, observée depuis longtemps et étendue à divers antigènes : *Salmonella* (Seisuke, Numasaki [197],

Jenkins [104]), *Brucella* (Leonardi [124], Jones et Orcutt [105]), a d'ailleurs fait l'objet de nombreuses explications. Nous aurons l'occasion d'y revenir à propos des diverses théories sur la réaction antigène - anticorps.

IV. — MÉCANISME DU PHÉNOMÈNE D'AGGLUTINATION

Diverses descriptions du phénomène d'agglutination ont été publiées; elles nous éclairent peu, malheureusement, sur le mécanisme intime de la réaction.

Les modifications apportées à la surface des hématies — au cours de l'hémagglutination — et observées au microscope électronique ou au microscope à contraste de phase, laissent suggérer à divers auteurs (Ponder, Bessis, Bricka, Gorius [16, 181]) que l'agglutination résulte du fusionnement de deux couches visqueuses situées à la surface du globule rouge.

D'autres observations concernant l'agglutination des bacilles typhique et paratyphique par les immunsérums correspondants de lapin ont été décrites : selon Mudd et Anderson [148], les cils des bacilles, au cours de l'agglutination, apparaissent beaucoup plus nettement et tendent à s'agréger quand les anticorps se déposent sur eux; à ce moment, les parois cellulaires deviennent plus opaques et moins nettes.

Il semble intéressant de rapprocher ces constatations des conceptions anciennes de Gruber et Durham : ces auteurs ont supposé que l'agglutinine a pour effet de rendre visqueuses les membranes des germes, de sorte que ceux-ci deviennent aptes désormais à adhérer les uns aux autres.

Signalons encore que les hématies humaines, sous l'action de la trypsine ou de la papaïne, acquièrent la propriété d'être agglutinées, en présence de sels, par les anticorps anti-Rh incomplets. Ces protéases altéreraient la surface

des hématies et affaibliraient ainsi la stabilité de la suspension (Berger [14], Kuhns et Bailey [115], Wheller, Luhby et Scholl [230], Hubinont [100]).

Ces diverses observations sembleraient rattacher le phénomène d'agglutination à une modification de structure de l'élément antigénique. Il semble que ces conceptions ne sont pas tout à fait conformes à la réalité, ainsi que le prouvent les expériences de Kraus : si l'on mélange du sérum d'animaux vaccinés contre le vibrion cholérique avec une culture filtrée et parfaitement limpide de ce germe, on voit apparaître un précipité, alors que rien de semblable ne se produit avec un sérum non homologue. Le précipité formé possède la propriété de s'agglomérer en flocons dont l'aspect rappelle celui présenté par les « véritables flocons » de microbes agglutinés. L'agglutination devrait être ainsi rattachée à la présence de matériaux provenant de la désintégration microbienne, considérée par Nicolle comme la « substance agglutinable des microbes ». Peut-être y a-t-il identité entre cette matière agglutinable et la matière adhésive décrite par Dineur et apparaissant sur les cils des bacilles du type typhique responsables de l'adhérence des microbes entre eux.

Il est intéressant de rapprocher de ces constatations les conceptions de Paltaug : selon cet auteur, les bactéries déverseraient autour d'elles, dans le liquide ambiant, des produits susceptibles de se coaguler sous l'influence de l'immunsérum et de se condenser en flocons qui, en se rétractant, entraîneraient avec eux les microbes.

Toutes ces expériences ne nous renseignent pas sur le mode de liaison entre l'antigène (bactéries, hématies ou matériaux élaborés par ces cellules) et l'anticorps.

Les avis restent partagés, et les liaisons énergétiquement fortes (liaisons électrovalentielles) comme les liaisons énergétiquement faibles (type force de Van der Waals) ont été invoquées.

Signalons que le phénomène d'hémagglutination amène

une chute de potentiel (Jeney et Vaczi [103]), ce qui laisserait supposer la possibilité d'existence de liaisons du type électrovalentiel.

Northrop et de Kruif [162], à la suite de leur étude sur l'agglutination bactérienne, estiment que la stabilité d'une suspension microbienne est le résultat de forces opposées, d'une part la cohésion des bactéries, d'autre part les forces répulsives dues aux charges électriques des cellules. En présence de l'agglutinine correspondante, le potentiel de surface des bactéries se trouve diminué et atteint la même valeur que celui des globulines - anticorps; les forces de cohésion sont augmentées, les bactéries deviennent moins hydrophiles et capables de s'agglomérer par de plus petites concentrations d'électrolytes.

Quoiqu'il en soit, la liaison unissant l'antigène et l'anticorps présente une stabilité particulièrement grande, car certains agents dissociant habituellement les complexes s'avèrent inactifs sur les agglutinats (Machebœuf et Visconti [139]).

De récentes recherches sur l'énergie de liaison antigène-anticorps apportent des arguments en faveur de liaisons par forces énergétiquement faibles : Wurmser et collaborateurs [235, 236, 65, 237] ont étudié l'isohémagglutination et, grâce à des calculs thermodynamiques [63], sont parvenus à déterminer l'énergie de formation du complexe agglutinine - agglutinogène. Ils concluent de leurs résultats (*) que la chaleur dégagée au cours de la réaction correspond à la formation d'environ quatre liaisons hydrogène ou à une vingtaine d'attractions de Van der Waals par molécule d'agglutinine.

La vitesse avec laquelle s'effectue la réaction paraît très grande : Winkler et Westphal [233] ont évalué le temps mis par les bactéries pour être agglutinées par l'antisérum correspondant : la technique consiste à mettre en présence

(*) On trouvera des détails sur ce point dans une revue de Tayeau [202].

les deux « reagents », à soumettre le mélange à la centrifugation après des temps de contact variés à 37° et à évaluer dans les eaux-mères les agglutinines non combinées. L'expérience montre que la réaction bactérie-agglutinine est rapide et qu'après quinze minutes, la presque totalité des anticorps se trouve fixée.

Des faits du même genre ont été enregistrés en ce qui concerne les précipitines (Lecomte du Noüy [123], Lumière et Meyer [133], Coppo [43], Gitlin et Edelhoch [11], Golberg et Campbell [74], Tayeau et Marquevielle [208]).

Toutes ces recherches, dont l'intérêt théorique est incontestable, renseignent bien peu sur la nature des liaisons antigène - anticorps. Selon les récents travaux de Pressman, Breyden et Pauling [185], l'attraction serait principalement représentée par la charge électrique des groupements carboxyle et par les forces de Van der Waals des noyaux benzéniques. Mais, quelle est la part d'énergie qui revient à chacune d'elles ?

V. — THÉORIES DIVERSES SUR LE MÉCANISME DE LA RÉACTION ANTIGÈNE - ANTICORPS (*)

La lecture des lignes qui précèdent permet de poser la question : l'union antigène - anticorps s'effectue-t-elle dans certaines proportions définies ?

Dans le but de répondre à cette question, plusieurs théories ont été proposées dès le début (Ehrlich, Arrhenius et Madsen, Bordet) ; ces théories, qui ont suggéré de nombreuses recherches, présentent l'inconvénient — et nous aurons l'occasion d'y revenir — de faire abstraction des forces spécifiques dans le phénomène d'agglutination. De nouvelles hypothèses, émises surtout à propos du phénomène de précipitation spécifique, ont donc été proposées

(*) Pour la rédaction de ce chapitre, nous avons fait de très larges emprunts à une récente revue de Tayeau [202].

(Marrack, Heidelberger, Pauling, etc.). Elles peuvent être aisément étendues au phénomène d'agglutination. D'ailleurs, agglutination et précipitation ne constituent que deux aspects différents d'un même phénomène (Krüger [114]) : les titres des agglutinines et des précipitines, au cours de l'immunisation du lapin, évoluent d'une façon tellement parallèle qu'on arrive à conclure qu'il s'agit d'un seul et même anticorps fonctionnant tantôt comme agglutinine, tantôt comme précipitine (Greiner [82]) ; cette constatation apporte un argument supplémentaire à la « conception unitaire des anticorps » (Zinsser [241]).

A. — Anciennes théories

1° *Théorie d'Ehrlich.* — Ehrlich [61] a eu le mérite d'être le premier à émettre une théorie sur la réaction antigène - anticorps. Cet auteur admet, comme un postulat, que la neutralisation de l'antigène par l'anticorps est tout à fait comparable à la neutralisation d'un acide fort, comme l'acide chlorhydrique, par une base forte, comme la potasse. Par conséquent, lorsque l'on mélange, en quantités qui se neutralisent exactement, l'antigène et l'anticorps, le milieu ne doit contenir à l'état libre aucun des deux principes; si l'un des deux se trouve introduit en excès, cet excès doit persister dans le milieu sans modification.

Ehrlich devait cependant noter peu après un phénomène qui paraissait en contradiction avec ses conceptions (phénomène d'Ehrlich) : lorsqu'on mélange 100 équivalents de toxine avec 99 équivalents d'antitoxine, le milieu doit renfermer, d'après la précédente théorie, une dose mortelle de poison (capable de tuer un cobaye de 250 g). Or, ce mélange est à peu près inoffensif : si l'on veut tuer à coup sûr le cobaye, il ne faut pas ajouter plus de 75 doses d'antitoxine à 100 doses de toxine. Or, un tel mélange devrait normalement être suffisant pour provoquer la mort, non pas d'un seul, mais de 25 cobayes ! Tout se passe donc alors

comme si les premières doses d'antitoxine ajoutées avaient manifesté un effet neutralisant beaucoup plus grand que les dernières.

Pour rendre cette observation compatible avec sa théorie, Ehrlich a dû faire appel à de nouvelles considérations : la solution de toxine contiendrait, selon lui, deux substances : la *toxine vraie,* constituant le poison mortel, et la *toxone,* incapable de tuer, mais responsable simplement des accidents locaux et paralytiques. Ces deux substances possèdent un pouvoir neutralisant équivalent vis-à-vis de l'antitoxine, mais selon une affinité extrêmement différente : la toxine vraie serait beaucoup plus « avide » que la toxone. Par conséquent, il suffit que l'antitoxine neutralise seulement la toxine vraie pour que le mélange devienne à peu près inoffensif.

Une théorie identique concernant le phénomène d'agglutination spécifique a été émise; l'agglutinine comprendrait, en plus de l'agglutinine vraie, des *agglutinoïdes,* très avides, qui empêcheraient la fixation des agglutinines vraies.

Cette nouvelle interprétation ne résolvait cependant pas tous les problèmes : lorsque, pour un système donné, on a déterminé la quantité d'anticorps nécessaire à la neutralisation de l'antigène « vrai », on s'aperçoit que le rapport ainsi déterminé n'est plus valable lorsque les conditions d'expériences subissent quelque modification (concentrations différentes, additions graduelles d'anticorps, etc.). Des critiques du même ordre que celles inhérentes au phénomène précédemment décrit peuvent être de nouveau formulées. Cela conduisit Ehrlich à subdiviser encore l'anticorps en nouvelles substances et à donner finalement à sa théorie une extrême complexité.

La base de la théorie d'Ehrlich, qui repose sur la fixité du complexe antigène - anticorps, est contraire à la réalité (Bier et Nelson Planet [18]).

2° *Théorie d'Arrhénius-Madsen.* — Ces auteurs [5]

admettent que la réaction antigène - anticorps est régie par la loi d'action de masse de Guldberg et Waage, et que la neutralisation de l'antigène par l'anticorps est tout à fait comparable à la neutralisation d'une base faible comme l'ammoniaque par un acide faible comme l'acide borique; à l'appui de cette assertion, ils font remarquer que la courbe de neutralisation, dans le premier cas, présente la même allure que dans le second. Quelles que soient les proportions d'antigène et d'anticorps mises en jeu, il existe donc toujours une partie de l'un des deux constituants à l'état libre, même si l'on se trouve en présence d'un excès de l'autre; ceci expliquerait la toxicité de certains mélanges toxine - antitoxine, contenant même un excès d'anticorps, vis-à-vis de certains animaux particulièrement sensibles à la toxine.

Cette théorie ne s'avère pas non plus exempte de critique; elle implique une parfaite réversibilité de la réaction; comme le fait remarquer Bordet [25], elle oblige à penser que la soustraction d'une certaine quantité de toxine à un mélange toxine - antitoxine provoque la décomposition du complexe formé pour rétablir l'équilibre et amène en conséquence la libération d'une nouvelle quantité de toxine. Un animal qui reçoit un mélange neutralisé de toxine et d'antitoxine devrait donc succomber sous l'influence du poison, car ses cellules qui, on le sait, se montrent capables d'absorber la toxine libre, amèneraient la décomposition d'une nouvelle quantité de complexe, et ce phénomène durerait jusqu'à ce que la totalité de la toxine se trouve ainsi libérée. Or, les choses ne se passent pas ainsi !

De plus, il paraît difficile d'admettre sans réserve la réversibilité de la réaction antigène - anticorps, surtout si l'on considère qu'une importante portion du complexe s'élimine de la phase aqueuse sous forme de précipité ou d'agglutinat.

Le phénomène d'inhibition dans la zone d'excès d'antigène, signalé depuis longtemps déjà [145, 167], trouve diffi-

cilement son explication dans la théorie d'Arrhénius-Madsen. Comment expliquer, en effet, cette inhibition si l'on admet toujours que l'antigène et l'anticorps se combinent en proportions invariables ? Pour obvier à cette critique, Arrhénius et Madsen furent amenés à considérer l'existence de deux complexes différents.

Arrhénius et Madsen, comme Ehrlich, admettent donc la fixité de la combinaison antigène - anticorps.

3° *Théorie de Bordet.* — Les premières recherches sur la composition des précipités antigène - anticorps ont montré que ces deux substances pouvaient s'unir en proportions variables et ont infirmé, de ce fait, les théories précédemment exposées.

Un certain nombre d'analogies entre les réactions dites « colloïdales » et la réaction antigène - anticorps font admettre à Bordet [25] une union par simple adsorption. En voici des exemples :

— L'agglutination microbienne présente des rapports avec la floculation des colloïdes; l'une et l'autre exigent la présence d'électrolytes;

— La neutralisation des toxines, comme la fixation des agglutinines, d'ailleurs, constitue un phénomène relativement lent, tout à fait comparable aux phénomènes d'adsorption. L'expérience de Biltz apporte encore un argument en faveur de la conception de Bordet. L'hydrate ferrique colloïdal constitue un excellent antidote de l'acide arsénieux : lorsque l'on mélange ces deux substances, elles s'adsorbent mutuellement. Or, un mélange exactement neutralisé d'hydrate ferrique et d'acide arsénieux auquel on ajoute un léger excès d'acide arsénieux n'est pas toxique; pour qu'il le soit, il faut ajouter un très notable excès de doses toxiques. Ne retrouve-t-on pas dans cette expérience une constatation du même type que celle faite précédemment à propos du phénomène d'Ehrlich ?

La réaction de précipitation spécifique, comme d'ailleurs

celle d'agglutination, correspondrait donc à l'adsorption d'une couche d'anticorps à la surface de l'antigène. Cette surface pourrait être plus ou moins occupée. « Ainsi se place, entre l'antigène pur et l'antigène complètement saturé, toute une gamme de produits de transition dont chacun ayant une constitution propre possède aussi des qualités particulières. » (Bordet.)

L'existence du phénomène de zone et l'inhibition de la précipitation dans la région d'excès d'antigène, par exemple, s'expliquent également très bien. L'union de l'antigène à l'anticorps pouvant s'accomplir en proportions variables, on conçoit aisément que si l'on se trouve en présence d'un excès d'antigène, les molécules de l'anticorps « s'éparpillent » sur un nombre trop élevé de molécules antigéniques pour modifier la solubilité de l'antigène qui reste ainsi en solution.

Enfin, Bordet explique ce qu'il appelle le deuxième temps de la réaction (précipitation spécifique, agglutination spécifique) par une sensibilisation toute particulière à l'action des électrolytes, dont nous avons noté l'importance [168, 21, 239, 180, 171, 228, 153].

Les sels joueraient même, selon certains, le rôle essentiel : pour Bier [17], l'immunsérum ne ferait que sensibiliser les bactéries au sel, et ce serait celui-ci qui, en réalité, agglutinerait; le sel semblerait agir de deux façons : il ferait baisser la différence de potentiel existant entre les bactéries et le milieu de suspension, mais il diminuerait la force cohésive entre les microbes; le sérum spécifique empêcherait cette diminution due au sel et conditionnerait ainsi l'agglutination des bactéries (Northrop et de Kruif).

Donc, selon Bordet, deux temps caractériseraient la réaction antigène - anticorps : 1° union entre l'antigène et l'anticorps faisant intervenir les forces spécifiques; 2° agglutination ou précipitation due exclusivement à des forces non spécifiques et en particulier aux électrolytes.

Cette théorie a le mérite d'expliquer de nombreuses cons-

tatations expérimentales. Aussi, a-t-elle été reprise, puis modifiée et complétée [141]. Cependant, elle n'est pas non plus à l'abri des critiques [119], et surtout elle fait abstraction de l'intervention des forces spécifiques dans la seconde phase de la réaction de précipitation. Pour Bordet, la floculation constitue un phénomène purement physique.

B. — Théories modernes

Si la théorie de Bordet présente le grand avantage de pouvoir interpréter l'union en proportions variables de l'antigène et de l'anticorps, elle reste cependant très vague sur le nombre et la répartition des groupements déterminants de l'antigène et des motifs spécifiques de l'anticorps.

Cette dernière notion présente une grande importance : elle correspond à ce que les immunologistes désignent sous le nom de *valence*. Un anticorps qui possède par exemple deux motifs spécifiques par molécule sera considéré comme bivalent.

En ce qui concerne l'antigène, l'unanimité semble faite : les antigènes sont polyvalents. Plusieurs arguments plaident en faveur de cette notion : pour qu'un antigène du type antigène de Landsteiner [voir 135] puisse se combiner à l'anticorps, il faut qu'il contienne un nombre minimum de groupements hapténiques [96]; de plus, les travaux sur la structure périodique des protéines suggèrent que, dans les antigènes protéidiques tout au moins, il existe également une périodicité des groupements déterminants. Il en est de même pour divers antigènes non protéidiques, comme ceux du pneumocoque, par exemple, constitués par la polymérisation d'une substance glucidique; enfin, des études quantitatives sur la composition de précipités antigène - anticorps ont montré qu'une seule molécule d'antigène pouvait se combiner à un grand nombre de molécules d'anticorps [97].

En ce qui concerne la valence des anticorps, les avis

restent encore partagés; certains (Marrack, Heidelberger, Hershey, Dervichian et Grabar) considèrent les anticorps comme polyvalents; d'autres (Pauling) les estiment bivalents; d'autres, enfin (Wormall et collaborateurs), apportent des arguments en faveur de la monovalence.

1° *Théorie de Marrack.* — Se basant sur la polyvalence des antigènes et des anticorps, Marrack [141] conçoit l'union d'un certain nombre de molécules d'antigène et

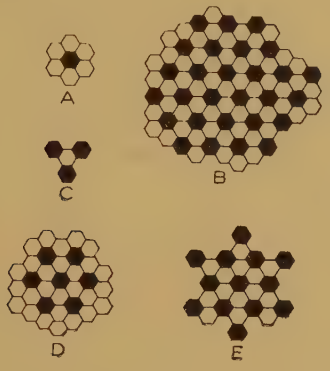

Fig. 1.

Constitution de complexes spécifiques (d'après Marrack).

A, grand excès d'anticorps; *B*, zone d'équivalence; *C*, grand excès d'antigène; *D*, excès d'anticorps; *E*, excès d'antigène; *en foncé*, antigène; *en clair*, anticorps.

d'anticorps, l'ensemble formant un réseau *(lattice theory)* représenté sur la figure 1, B. Les groupements polaires des diverses molécules se trouvent engagés à l'intérieur du réseau; seules « émergent » les fonctions placées à la périphérie de l'agrégat. La solubilité de l'ensemble se trouve régie par le rapport $\frac{\text{fonctions hydrophiles libres}}{\text{volume de l'agrégat}}$ lorsque ce rapport descend en dessous d'une certaine

valeur; lorsque, par exemple, l'agrégat atteint un certain volume, le complexe s'insolubilise et précipite.

En dehors de la zone d'équivalence, on observera la formation de complexe du type 1, A (excès d'anticorps) ou 1, E (excès d'antigène); dans le premier cas, les agglomérats resteront solubles, les molécules d'antigène n'étant pas en nombre suffisant par rapport à celles d'anticorps pour former des agglomérats susceptibles de floculer. Une remarque du même ordre peut être formulée pour le second cas.

La seconde phase de la réaction constitue ainsi le prolongement graduel de la première et se trouve conditionnée par l'existence des forces spécifiques. Les travaux de Topley, Wilson et Duncan [221], de Wiener et Herman [232] et de Tayeau et Marquevielle [209] apportent des arguments en faveur de l'intervention des forces spécifiques (voir plus loin, p. 101).

2° *Théorie de Heidelberger.* — Cet auteur [87] admet également la polyvalence des anticorps et considère la réaction de précipitation antigène - anticorps comme une série de réactions bimoléculaires successives. La loi d'action de masse s'applique continuellement et la quantité de produit formé se montre ainsi proportionnelle aux concentrations des substances « réagissantes ».

Lorsque les particules atteignent une taille suffisante, elles s'insolubilisent et s'éliminent du milieu de la réaction. On trouvera dans l'ouvrage de Boyd [31] une étude détaillée sur les diverses réactions bimoléculaires selon Heidelberger et sur leur théorie mathématique [91]. Si l'on désigne par A l'anticorps et par G l'antigène, la composition du précipité dans la zone d'équivalence sera du type (G A)n; dans la zone d'excès d'anticorps, il sera voisin de G A n, et dans la zone d'excès d'antigène de G n A. Schramm et Friedrich-Fieksa [195] ont apporté d'intéressants arguments en faveur de la théorie de Heidelberger : ces auteurs

ont étudié les complexes antigène - anticorps des systèmes virus de la mosaïque du tabac - antisérum de porc et virus-antisérum de lapin. L'analyse des précipités et leur examen au microscope électronique a permis de retrouver, aux différentes concentrations relatives antigène - anticorps, la composition prévue par la théorie de Heidelberger.

Cette théorie rejoint en de nombreux points celle de Marrack. Dans un cas comme dans l'autre, la floculation se trouve liée à la taille de l'agrégat, et celui-ci doit sa formation à l'intervention des forces spécifiques.

3° *Théorie de Dervichian et Grabar.* — A la suite de ses études sur les lames minces de protéines, Dervichian [47] a proposé une hypothèse sur la structure de ces substances. La molécule protéidique est assimilée à deux hémimolécules planes à faces différentes. L'une de ces faces comprendrait les fonctions hydrophiles des aminoacides, l'autre porterait les groupements hydrophobes. C'est la configuration de la chaîne polypeptidique qui, à l'intérieur de cette hémimolécule, conditionnerait cette orientation. La molécule entière serait constituée par deux hémimolécules unies entre elles par leur face hydrophobe. Les groupements hydrophiles externes seraient rangés périodiquement suivant un réseau hexagonal plan.

Dervichian et Grabar [48, 79] ont fait appel à cette conception pour émettre une théorie sur le mécanisme des réactions antigène - anticorps. Selon ces auteurs, un « motif » serait constitué par un ensemble de fonctions de ce réseau. L'union entre antigène et anticorps, tout au moins lorsque l'antigène est de nature protéique, se ferait par juxtaposition des surfaces planes et nécessiterait une compatibilité des motifs entrant en contact (Grabar). En raison de la symétrie ternaire, chaque molécule doit pouvoir, par chacune de ces deux faces, s'unir à trois molécules (ou un multiple de trois) opposées.

Selon cette théorie, les complexes antigène - anticorps

sont formés, soit par la juxtaposition d'un petit nombre de molécules, soit par l'empilement de plus en plus volumineux de ces molécules suivant la proportion relative des composants. L'antigène et l'anticorps peuvent ainsi s'unir dans toutes les proportions : lorsque l'on se trouve, par exemple, en présence d'un grand excès d'anticorps, seules les molécules d'antigène seront en mesure de satisfaire toutes leurs valences, et vice versa.

Si l'on utilise les symboles précédemment employés, le complexe antigène - anticorps, dans la zone d'excès d'anticorps, sera du type A_6G, puis au fur et à mesure que l'on s'éloignera de cette zone, le complexe deviendra $(A_3G)nA_3$, puis plus loin, lorsqu'on se rapproche de la zone d'excès d'antigène, le complexe évoluera vers $(A_3G)nG$, puis A_3G_2 et, enfin, $A\,G_6$ (zone d'inhibition).

Les auteurs ont comparé les résultats de leur théorie avec la composition des précipités spécifiques de divers systèmes immunologiques. En général, l'accord est satisfaisant.

Malheureusement, il y a incompatibilité entre la structure des protéines, telle que l'a prévue Dervichian, et les résultats obtenus par la diffraction des rayons X (Astbury).

Enfin, cette théorie, facilement appliquable au phénomène de précipitation spécifique, devient difficilement adaptable à la réaction d'agglutination.

4° *Théorie de Pauling.* — Cet auteur considère l'anticorps comme bivalent et admet la formation d'un réseau.

Dans la zone des proportions optima, toutes les valences, celles de l'antigène comme celles de l'anticorps, se trouvent saturées (fig. 2) ; en présence d'un excès d'antigène comme d'un excès d'anticorps, il se formerait des complexes du type schématisé par la figure 3. Une expérience de Pauling, Pressmann et Campbell trouve son explication dans cette théorie : ces auteurs injectent à des lapins une azoprotéine contenant des groupements hapténiques (R) (p-azobenzène arsonate) ; ils obtiennent ainsi un immun-

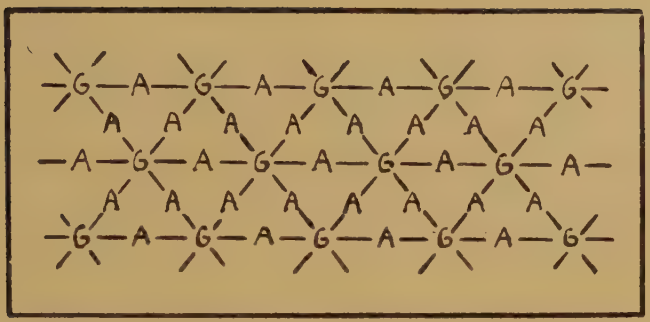

FIG. 2.

Combinaison antigène - anticorps dans la zone des proportions optima. Ici, l'antigène a la valeur 12, car en plus des six valences représentées dans ce plan, il en existe six autres dans le plan perpendiculaire, qui relient chaque molécule d'antigène aux plans supérieur et inférieur (d'après PAULING).

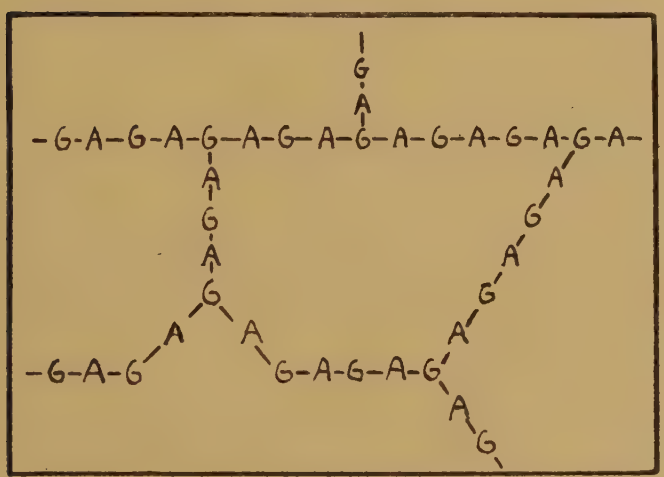

FIG. 3.

Précipités dans la région d'excès d'antigène
(d'après PAULING).

sérum anti-R. Ils injectent par ailleurs à un autre lot de lapins une azoprotéine contenant des groupements hapténiques (X) (p-azobenzoate) ; ils obtiennent un immunsérum anti-X. Ils préparent ensuite deux substances synthétiques du type R X comprenant dans leur molécule un groupement R et un groupement X (*). Ces substances, comme il est facile de le vérifier, ne donnent aucun précipité avec l'un ou l'autre immunsérum, mais en produisent avec le mélange des deux. Cette constatation s'explique alors très bien : lorsque le di-haptène se trouve en présence de l'un des immunsérums (anti-R, par exemple), il combine son groupe R avec le motif spécifique de l'anticorps; deux molécules de R X forment un complexe soluble avec une molécule d'anticorps bivalent, mais elles ne peuvent former « d'assemblage » et aucun précipité n'apparaît. Avec le mélange des deux immunsérums, R X forme, au contraire, un ensemble dans lequel peuvent alterner les anticorps anti-R et anti-X [173] ; on conçoit alors qu'un précipité puisse apparaître.

Diverses expériences viennent plaider en faveur de la bivalence des anticorps : Pappenheimer, Landgren et Williams [170], au cours d'une étude sur le système toxine diphtérique-antisérum de cheval mettant en œuvre l'ultracentrifugation, concluent à la bivalence des anticorps. Plus tard, Eisen et Karusch [58], plaçant des anticorps purs (obtenus par dissociation du précipité spécifique) dans un dialyseur de cellophane, étudient les variations de concentration de l'haptène correspondant placé à l'extérieur du dialyseur. L'équilibre une fois atteint, ils déterminent les quantités d'haptène fixées sur l'anticorps. Ils déduisent de leurs calculs que l'anticorps est bivalent.

Enfin, Marrack et Hoch [142] soumettent à l'électro-

(*) Première substance : 1-amino-2-p-(p-azo-benzène-azo)-benzène arsonique - 3,6 - di - sulfonique - 7 - p - (p - azo - benzène - azo) - benzoïque - 8 - hydroxynaphtalène. Deuxième substance : 1,8 - dihydroxy - 2 - p - azo - benzène arsonique - 3,6 - disulfanique - 7 - p - (p - azo-benzène - azo) - benzoïque - naphtalène.

phorèse un complexe sérum albumine de cheval - antisérum de lapin, dissous dans un excès d'antigène. Le diagramme électrophorétique obtenu permet de calculer la quantité de sérum albumine combinée à l'anticorps. Les résultats obtenus semblent montrer que, dans ce système tout au moins, l'anticorps est divalent.

5° *Théorie de la monovalence des anticorps.* — D'anciennes recherches sur la composition de précipités spécifiques pouvaient laisser supposer que les anticorps étaient univalents : à la suite d'expériences mettant en œuvre l'ultra-centrifugation et portant sur le système ovalbumine-antisérum de lapin, Heidelberger et Pedersen [90] admettent que, dans ce système, une molécule d'anticorps se combine seulement à une molécule d'antigène. D'autre part, Winkler et Westphal [233], travaillant sur deux systèmes agglutinants (rickettsia - antisérum de lapin, rickettsia - antisérum humain de convalescent), sont conduits à conclure que le complexe antigène - anticorps contient deux molécules d'anticorps pour chaque molécule d'antigène. Dans ce système, on a donc affaire à un antigène bivalent et à un anticorps monovalent.

L'utilisation des isotopes apporte aussi des arguments en faveur de la monovalence des anticorps; divers éléments radio-actifs ont été ainsi mis en jeu (Banks, Francis, Mulligan et Wormall [10, 11]). L'analyse des précipités spécifiques obtenus et le calcul des rapports antigène - anticorps conduisent ces auteurs à considérer l'anticorps comme univalent.

Tayeau [202] pense que, « s'il en est réellement ainsi, il semble difficile de rendre compatible cette notion avec la spécificité du deuxième temps de la réaction : si, en effet, l'anticorps est univalent, le complexe antigène - anticorps se trouve constitué par une molécule d'antigène à la surface de laquelle viennent se fixer des molécules d'anticorps. Le complexe ainsi formé atteint une taille limite relativement

petite — à moins d'admettre pour l'antigène une « valence » très élevée — et cette dimension est sans doute insuffisante pour expliquer la taille des agrégats formés. Ceux-ci ne pourraient donc se constituer que par l'intermédiaire de forces non spécifiques, les groupements spécifiques se trouvant « mobilisés » pour assurer la liaison avec l'antigène. Cette conception finirait donc par rejoindre, aux détails près, celle de Bordet dont nous avons signalé les inconvénients..., à moins d'admettre que les molécules d'anticorps possèdent en dehors de leurs groupements spécifiques réactionnels, des « régions » elles-mêmes spécifiques favorisant l'accolement des faces latérales de diverses molécules d'anticorps. Mais ce ne sont là, conclut Tayeau, que des hypothèses bien fragiles auxquelles on ne saurait accorder grand crédit, tant que des faits expérimentaux ne soient pas venus les étayer. » (*) [202].

VI. — L'AGGLUTINATION NON SPÉCIFIQUE

Il semble difficile de parler du phénomène d'agglutination spécifique sans envisager un autre phénomène qui, jusqu'ici, n'a pas reçu d'explication bien satisfaisante : l'agglutination non spécifique (Landsteiner, Rona et György).

Des substances extrêmement variées possèdent, en effet, la propriété de provoquer dans des conditions bien déterminées l'agglutination d'hématies ou de germes : c'est ainsi, par exemple, que des extraits de ricin amènent, en présence d'électrolytes, l'agglutination des hématies (Rona et György) ; le phénomène pourrait être dû, aussi bien dans le cas des globules que dans celui des bactéries (Hirszfeld), à un abaissement de la charge électrique des cellules antigènes.

(*) Un tout récent travail de Goldberg [73] envisage la possibilité d'anticorps bivalents et univalents.

A. — Agglutination par les acides

Les acides possèdent la propriété de provoquer l'agglutination, en particulier, des bacilles du groupe Coli. Les modalités de cette action s'avèrent curieuses : en l'absence d'électrolytes, l'agglutination du bacille d'Eberth et des paratyphiques se trouve diminuée; celle du Coli et du paracoli, au contraire, est augmentée. En présence d'électrolytes, on observe des effets inverses (Eisenberg).

B. — Agglutination par les sels métalliques

Quelques sels métalliques (nitrate d'argent, sulfate ferreux, chlorure mercurique, sulfate de cuivre, sulfate d'aluminium) provoquent l'agglutination aspécifique des hématies; l'effet produit dépend du cation mis en jeu et du *p*H du milieu [110, 35, 117, 192, etc.].

C. — Agglutination par les glucides

Le glucose se montre capable de provoquer l'agglutination d'une suspension de globules rouges, à condition toutefois que le *p*H du milieu soit compris entre 1 et 4; en milieu alcalin, aucune agglutination n'apparaît. Kossovitch et Adra [109] ont noté que les substances non électrolytes (mannitol, acétone, résorcinol) n'exercent aucune influence sur le phénomène; au contraire, les sels sodiques d'acides organiques (oxalate, citrate, benzoate, salicylate) retardent l'agglutination.

D. — Agglutination par les colorants basiques

Les colorants basiques provoquent l'agglutination des hématies, à l'inverse des colorants acides qui se montrent sans effet.

La trypaflavine agglutine diverses bactéries (*Shigella, Brucella,* typhiques) (Severi [188], Hirsch [94], Wagner

[234]) ; il en est de même en ce qui concerne l'acriflavine, dont l'action s'avère plus intense lorsque la solution a été préalablement irradiée (Vendramini [226]). De nombreux autres dérivés ont été étudiés; parmi ceux manifestant une activité agglutinante, citons le méthyl-violet, le bleu de méthylène, les Azurs I et II, le brun de Bismark, la chrysoïdine (Yankovski et Krechetova [238]).

E. — Agglutination par les substances protidiques

La poly-lysine, de poids moléculaire variant entre 3.000 et 26.000, agglutine les globules rouges de poulet, des suspensions de colibacilles à des concentrations très basses. Divers polypeptides agissent de même : leur activité dépend des aminoacides qui les constituent et de leur poids moléculaire [189].

L'histone, extraite des globules rouges de poulet, agglutine et précipite diverses espèces de globules et de bactéries entre *p*H 3 et *p*H 9; cette action agglutinante semble dépendre de la basicité de la protéine, car l'histone extraite du thymus, qui est beaucoup moins basique, se montre inactive sur les mêmes cellules (Lajmanovich et Mittelman [116]).

F. — Agglutination par la bilirubine

La bilirubine est capable de provoquer l'agglutination des hématies en suspension dans le liquide de Ringer (Clementi [38, 39, 40]) ; les petits ions, et en particulier alcalino-terreux, s'avèrent nécessaires à cette agglutination. Le calcium exerce une action stimulante puissante. Cette action de la bilirubine s'expliquerait par son caractère bipolaire; le pigment s'adsorberait à la surface du globule du côté positif, tandis que le calcium se fixerait sur les charges négatives; l'hématie ainsi neutralisée aurait davantage tendance à s'agglutiner.

La biliverdine ne présente pas les propriétés de la bilirubine [37].

G. — Agglutination par la streptomycine

La streptomycine possède la propriété de provoquer l'agglutination d'un certain nombre de germes (Gros et Machebœuf [83]) ; seules les souches possédant un antigène somatique O ne sont pas agglutinées.

Cette action de la streptomycine est passée très longtemps inaperçue, en raison du rôle joué par les électrolytes sur le phénomène : tandis que les électrolytes favorisent l'agglutination dans tous les exemples rencontrés jusqu'ici, ils exercent, au contraire, un pouvoir inhibiteur dans le cas de la streptomycine (*).

Cette action de la streptomycine serait due aux deux groupements guanidyles de cet antibiotique (Gros et Machebœuf [83]). Les modalités du phénomène (concentrations en antibiotique, en sels, *p*H) ont été précisées par Linz et Mme Lecocq [129]).

H. — Agglutination par diverses substances

Les substances les plus variées provoquent l'agglutination. Parmi celles ayant fait l'objet d'études particulières, citons l'iode, l'α-amino-d-guanidine, l'acide valérianique (Varcica [224]).

Katchalsky se réfère à une théorie physicochimique pour expliquer l'agglutination des bactéries par la polylysine. Il montre que la presque totalité des molécules du polyélectrolyte basique se fixent à la surface des bactéries *(Escherichia coli* et *Micrococcus aureus),* car la plupart d'entre elles portent une charge négative; le potentiel électrostatique des cellules s'amoindrit ainsi que leur stabilité en suspension; l'agglutination et la précipitation s'ensuivent. Ne pourrait-on pas étendre cette théorie aux diverses substances qui provoquent l'agglutination aspécifique des bactéries et des hématies, et même aux petits ions qui perturbent les conditions physicochimiques ?

(*) Les sels minéraux décomposent les complexes streptomycine - protéines et streptomycine - acides nucléiques [42].

CHAPITRE III

L'AVIDITÉ DES AGGLUTININES

La notion d'avidité est d'une importance considérable et il importe de l'avoir présente à l'esprit pour pouvoir interpréter les résultats de nos recherches expérimentales.

L'avidité a surtout été étudiée à propos de la réaction de précipitation spécifique, et nous ne croyons pas superflu de rappeler les principales recherches effectuées dans ce domaine.

La vitesse de floculation des immunsérums précipitants est indépendante de leur titre en anticorps : deux sérums antidiphtériques de cheval, par exemple, présentant le même titre en anticorps, peuvent très bien floculer, quand on les met en présence de toxine, dans des temps extrêmement différents. Ce facteur, propre à l'immunsérum étudié, est designé par le terme avidité. Ce terme désigne tantôt la vitesse avec laquelle s'effectue la combinaison antigène-anticorps, tantôt la stabilité de cette combinaison, tantôt la vitesse de floculation. Ces trois facteurs, il est vrai, évoluent parallèlement (Glenny et Barr [73]).

Schmidt [193] considère cette avidité comme un facteur propre à l'individu. Pautrizel et Tayeau [175] ont pu démontrer que, dans certaines circonstances, cette assertion était inexacte.

Pour expliquer l'avidité des immunsérums, plusieurs théories ont été proposées : pour Wiener [231], l'avidité serait liée aux propriétés physicochimiques des α-globulines et en particulier à leur solubilité; Heidelberger [87] estime, de son côté, que l'avidité dépend de l'étroitesse de correspondance entre le groupement déterminant de l'antigène et le motif spécifique de l'anticorps. Boyd [31], enfin, relie l'avidité au nombre de motif spécifique supporté par chaque molécule d'anticorps.

La notion d'avidité, primitivement établie pour les précipitines, a pu être étendue aux agglutinines (Boyd [31]), et il est dès lors possible d'établir une nette distinction en ce qui concerne un sérum agglutinant, entre son titre en anticorps et son avidité. Barnes et Loutit [13] mesurent l'avidité d'un immunsérum agglutinant les hématies, en appréciant les globules rouges non agglutinés et en notant le temps d'agglutination. Pillemer [178] s'est également attaché à ce problème.

Malgré ces précisions, plusieurs auteurs ont émis des conclusions sur leurs recherches sans établir la distinction entre le titre en anticorps et l'avidité; des confusions regrettables qui, on le conçoit aisément, n'ont pas simplifié le problème, en sont résultées.

Désirant respecter ces conclusions, sur lesquelles nous allons d'ailleurs revenir plus loin, nous les mentionnerons à propos des travaux sur lesquels nous allons nous étendre à présent.

FACTEURS INFLUENÇANT L'AVIDITÉ DES ANTICORPS

Un grand nombre de substances ajoutées au milieu réactionnel ou bien modifiant la structure de l'anticorps modifient l'avidité de ce dernier.

Parmi les premiers, citons les protéines non spécifiques,

le glycocolle, l'alcool, les lipides...; les seconds comprennent un certain nombre de réactifs; nous n'envisagerons seulement, dans cette étude historique, que ceux sur lesquels nous n'avons pas effectué de recherches.

A. — Action des protéines non spécifiques

Milzer et Nathan [147] ont constaté que, lorsqu'on dilue un sérum agglutinant, non pas avec de l'eau physiologique, mais avec du sérum normal, ou de la sérum albumine de bœuf, ou du liquide d'ascite, on observe une élévation du titre en agglutinines. Krieger [112] note, de son côté, que l'addition d'albumine humaine à un sérum anti Rh contenant des anticorps univalents, rend la réaction d'agglutination plus rapide.

B. — Action du glycocolle

L'addition de glycocolle (4 p. 100) à un système globules rouges - antisérum agglutinant correspondant accélère l'agglutination; une proportion plus élevée de glycocolle l'inhibe, mais n'empêche pas la combinaison antigène - anticorps (Black [19]).

C. — Action de l'alcool

On signale simplement une action destructrice de l'alcool à partir du titre de 70° sur le bacille d'Eberth (Barhami [12]).

D. — Action des lipides

Les lipides extraits des hématies humaines, du placenta ou du cerveau exercent un effet inhibiteur sur l'agglutination des hématies par l'antisérum correspondant (Murray [150] et Neter [154]).

E. — Action de substances diverses

Enfin, de nombreuses substances agissant sur l'anticorps modifient la vitesse d'apparition de l'agglutinat; parmi ces substances, citons l'atoxyl, l'aniline, l'acide métanilique (Breinl et Haurowitz [34]), l'acide anacardique (Eichbaum [57]), le tanin (Klopstock et Neter [108], Green [80], Eisler et Howard [59]) qui détruisent les agglutinines, les polyholosides, extraits d'*Ascaris suum,* qui détruisent les α et β-agglutinines, mais qui se montrent sans effet sur les agglutinines anti Rh, anti M et anti N (Gonzales et Montilla [76], Vicente de Torregrosa [227], Gonzales [75]), le dextrose, l'amidon, la pectine, qui, selon les auteurs (Kitiro Kurokawa [107], Olitzki [165], Neil et Abrahams [151]), feraient baisser le titre d'agglutination, etc.

Bien d'autres substances ont été étudiées; nous en reparlerons à propos de nos recherches expérimentales.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

CHAPITRE I

ÉTUDE DE L'ACTION DE DIVERS RÉACTIFS SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS

Dans le but d'apporter des faits nouveaux à l'étude de la réaction antigène-anticorps, nous avons étudié, à propos de la réaction d'agglutination spécifique, un certain nombre de réactifs déjà mis en jeu dans la réaction de précipitation.

Pour l'étude des anticorps, nous avons utilisé la technique du *séro-diagnostic :* pour cela, nous préparons une série de tubes, dans lesquels nous plaçons un même volume de suspension de bactéries ou d'hématies, puis nous ajoutons des quantités décroissantes d'immunsérum, nous notons alors, pour chaque mélange, les temps nécessaires à l'apparition d'un agglutinat; celui-ci est mis en évidence grâce à la loupe, le tube étant placé devant un fond noir et éclairé obliquement. Le temps nécessaire à l'apparition de l'agglutinat correspond, comme nous l'avons indiqué précédemment, à l'avidité de l'immunsérum étudié.

Toutes nos expériences ont toujours été réalisées en présence d'un témoin, dans lequel le réactif étudié était remplacé par de l'eau physiologique.

I. — ACTION DU FORMOL SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS ET SUR LES ANTIGÈNES CORRESPONDANTS.

Les quelques recherches concernant l'action exercée par le formol sur les anticorps agglutinants présentant quelques contradictions, nous avons repris cette étude. D'autre part, nous utiliserons les résultats obtenus dans cette étude pour nos recherches sur la spécificité du second temps de la réaction d'agglutination.

A. — Action sur l'anticorps de lapin

Nous avons mis en œuvre dans cette expérience le système hématies de mouton - antisérum de lapin. Ce dernier a été traité par le formol à deux concentrations différentes; voici, avec le témoin, les trois mélanges que nous avons effectués :

1° 0,1 cm³ de sérum + 0,1 cm³ de solution de formol officinal au 1/50e;

2° 0,1 cm³ de sérum + 0,1 cm³ de solution de formol officinal au 1/100e;

3° 0,1 cm³ de sérum + 0,1 cm³ d'eau physiologique.

Les trois mélanges ont été laissés une heure au bain-marie à 37°.

Dans une série de huit tubes, nous avons ajouté 0,1 cm³ de suspension d'hématies de mouton à 2 p. 1.000, puis nous avons ajouté partout des dilutions croissantes d'immun-sérum. Les résultats obtenus (temps d'agglutination) se trouvent réunis dans le tableau I.

TABLEAU I

	Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/600
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	20	30	40	> 40	> 40
	Formol à 1 p. 100	2 ½	10	14	23	33	45		
	Formol à 1 p. 50	3	11	14	25	36	46		

Il résulte de cette expérience que le formol agissant sur l'anticorps de lapin allonge le temps d'agglutination.

B. — Action sur les anticorps de cheval

1° Nous avons effectué avec le système hématies de mouton - antisérum de cheval une expérience en tous points identique à celle précédemment décrite.

Les dilutions ont simplement été différentes, en raison du titre plus élevé en anticorps du sérum de cheval.

Nos résultats se trouvent consignés dans le tableau II.

TABLEAU II

	Dilution.....	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200	1/6.400	1/12.800
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	9	15	20	32	47	> 47		
	Formol à 1 p. 100	11	16	22	34	49	> 49		
	Formol à 1 p. 50	12	18	24	36	54	> 54		

Cette expérience permet de conclure que l'anticorps agglutinant de cheval traité par le formol, même à très faible concentration, agglutine beaucoup plus lentement l'antigène correspondant.

2° Nous avons effectué de nouveaux essais sur les immunsérums agglutinants de cheval en mettant en œuvre des antigènes différents.

Un premier essai a été réalisé sur le système paratyphique type B - antisérum de cheval correspondant (agglutination H).

L'immunsérum est traité par un volume égal d'une solution de formol au 1/20 (séjour une heure au bain-marie à 37°).

Pour la détermination du titre en anticorps, on effectue divers mélanges de la suspension microbienne et de dilutions de l'immunsérum. Il apparaît alors des agglutinats floconneux au fond des tubes; les culots sont remis en suspension par une chiquenaude sur le fond du tube; ces agglutinats sont facilement dissociables par agitation.

Cette agglutination peut être provoquée rapidement par une centrifugation (cinq minutes à 3.000 tours); s'il n'y a pas d'agglutination, la suspension reste homogène; dans le cas contraire, on observe des agglutinats très nets, facilement visibles à l'œil nu.

Le tableau III indique nos résultats.

TABLEAU III

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	15	23	29	1 h. 15	
	Formolé	17	27	33	1 h. 28	

Le formol retarde, ici encore, l'agglutination.

Une technique identique, appliquée au sérum de cheval antiparatyphique B (agglutination O), nous a permis de consigner les résultats suivants dans le tableau IV.

TABLEAU IV

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (heures)	Témoin	15	17	21	25	
	Formol à 1 p. 50	21 ¾	23			
	Formol à 1 p. 100	20 ¾	22			

Le formol possède toujours une action retardatrice.

Des essais comparables ont été effectués en utilisant un sérum de cheval antityphique (agglutination H et O) : les résultats se trouvent réunis dans les tableaux V (agglutination O) et VI (agglutination H).

TABLEAU V

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (heures)	Témoin	15	17	21	25	
	Formol à 1 p. 20	25	27			

TABLEAU VI

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	7	10	14	31	54	
	Formol à 1 p. 20	5	10	15	26			

Ces expériences montrent encore que l'agglutination est retardée par l'action du formol.

C. — Action sur les anticorps humains

Nous avons également mis en œuvre l'Homme comme donneur d'anticorps et nous avons étudié successivement l'action du formol sur les sérums humains (groupe A, groupe B et groupe O).

Pour réaliser ces expériences, nous avons mis en jeu le mode opératoire des essais précédents.

Les immunsérums traités (*) sont dilués et mis en présence d'une suspension d'hématies. Les tableaux VII, VIII et IX résument nos observations respectivement pour les sérums humains groupes A, B et O.

TABLEAU VII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	15	23	43	> 50	
	Formol à 1 p. 10	24	> 50			
	Formol à 1 p. 20	20	27	> 50		

TABLEAU VIII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	7	14	18	28	>40
	Formol à 1 p. 10	4	12	20			
	Formol à 1 p. 20	3	10	18	>40		

(*) Le sérum humain est traité par une solution de formol au 1/10, au 1/20 pendant une heure, à la température du laboratoire. Le témoin est traité d'une manière identique, mais l'eau physiologique remplace la solution de formol.

TABLEAU IX

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	18	26	32	
	Formol à 1 p. 10	4	10 ½	14	22	30		
	Formol à 1 p. 20	4	10	14	21	29		

Nous constatons que le formol retarde également l'agglutination de ces systèmes.

D. — Action du formol sur l'antigène

Dans cette expérience, nous avons utilisé comme antigène des hématies du groupe B et l'antisérum humain correspondant.

Afin d'éviter toute réaction parasite, nous avons effectué divers essais préliminaires, afin de déterminer la quantité maximum de formol incapable de provoquer l'hémolyse. Pour éviter l'hémolyse, il faut que la solution de formol mise en jeu, utilisée à volume égal de la suspension d'hématie, ne dépasse pas le titre de 1 p. 100.

Nous avons donc mis en présence d'une suspension d'hématie (au 1/10 en volume) un volume égal d'une solution de formol à 1 p. 100 et nous avons laissé le mélange à 37° pendant une demi-heure. Les hématies ainsi traitées sont lavées et le culot de centrifugation est remis en suspension dans de l'eau physiologique.

En utilisant la technique précédemment exposée et en opérant également avec un témoin, nous avons mesuré les temps d'agglutination.

Le tableau X rappelle nos résultats.

TABLEAU X

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	11	15	22	34	52	
	Hématies formolées	5	13	18	25	40		

Il résulte de cet essai que la formolisation de l'antigène amène un retard à l'agglutination.

E. — Conclusions concernant l'action exercée par le formol sur l'agglutination

Toutes les expériences précédemment décrites montrent que le formol agissant sur l'anticorps, ou même sur l'antigène, amène un retard appréciable dans la vitesse de réaction de l'agglutination spécifique.

Des recherches antérieures, réalisées dans d'autres conditions d'expériences, avaient conduit à la même conclusion. Parmi ces recherches, citons celles de Baivy [8] sur les agglutinines microbiennes et les hémolysines, celles d'Ivanov [102] sur les agglutinines en général, celles de Dujarric de La Rivière [52], celles de Braun [33], celles de Mudd et Joffre [149], de Rigoni [186], de Ducceschi et Cardin [50, 51], de Malaguzzi et Valeri [140], d'Armengo et Massons [4], de Lubinski et Portnuff [132], etc. Il semblerait que l'effet du formol porterait surtout sur le second temps de la réaction d'agglutination, car le complexe antigène - anticorps se forme quand même (Von Eisler et Löwenstein, Nicolas et Panisset [161]). Baivy [8] et Lewi [126, 127] ont donné d'intéressantes précisions sur les modalités du phénomène.

Ces résultats sont tout à fait conformes à ceux obtenus avec les précipitines et, en particulier, à ceux de Chow et

Goebel [36], de Eagle [54], de Heidelberger et collaborateurs [88] et de Neuzil et Pautrizel [159], quel que soit le donneur d'anticorps mis en jeu.

Les conclusions adoptées pour les précipitines sont donc applicables aux agglutinines, ce qui renforce encore la conception unitaire des anticorps.

Quelles peuvent donc être les modifications apportées aux anticorps par le formol et expliquant le retard à l'agglutination ?

Le formol apporte aux protéines un certain nombre de modifications d'ordre physique et d'ordre chimique : il modifie la viscosité du sérum et peut même, à forte dose, le transformer en un gel (formol-gélification) (Baivy et Bruynoghe [9]) (*).

Le formol se fixe sur les groupements amine libre des protéines (Sœrensen). Cette action amène un remaniement profond de la molécule protéidique, que révèlent des modifications du pouvoir rotatoire et l'apparition d'une fluorescence (Loiseleur [130]), qui correspondraient à l'apparition de cycles nouveaux.

Le motif spécifique de l'anticorps n'échapperait pas à ce remaniement et l'on peut penser, avec Neuzil et Pautrizel [150], qu'il s'accolerait d'une manière moins étroite au groupement déterminant de l'antigène; on expliquerait ainsi le retard à l'agglutination. Comme le pense Pons [183, 184], le formol diminuerait ainsi l'avidité des anticorps.

II. — ACTION DU MONOBROMACÉTATE SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS ET SUR LES ANTIGÈNES CORRESPONDANTS.

Le monobromacétate de sodium ($BrCH_2COONa$) est susceptible de réagir avec les protéines. Nous avons étudié son action sur les agglutinines.

(*) La dilution du milieu amène un retard à cette gélification [15].

A. — Action sur les anticorps de lapin

Nous avons utilisé le sérum de lapin antihématies de mouton et nous avons mis en œuvre la solution de monobromacétate de sodium à deux concentrations différentes (5 p. 100 et 10 p. 100).

Le sérum de lapin est additionné d'un volume égal de solution de monobromacétate de sodium et le mélange est porté au bain-marie à 37° pendant une demi-heure.

Un sérum témoin est traité exactement de la même façon, le réactif est simplement remplacé par de l'eau physiologique.

Les immunsérums ainsi traités (0,1 cm³) et dilués sont mis en présence d'une suspension d'hématies (0,1 cm³ d'une suspension à 2 p. 1.000) et les temps d'agglutination sont mesurés.

Le tableau XI indique les résultats que nous avons obtenus.

TABLEAU XI

	Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1.024
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	18	29	35	> 60	
	Monobromacétate à 5 p. 100	3	9	13	20	31 ½	36	> 60	
	Monobromacétate à 10 p. 100	3	10	14	21	32	35	> 60	

Il résulte de cet essai que si l'on fait agir le monobromacétate de sodium sur un anticorps agglutinant de lapin, cet anticorps agglutine beaucoup plus lentement l'antigène corespondant.

B. — Action sur les anticorps de cheval

Nous avons réalisé des essais avec trois antisérums différents :

a) Sérum de cheval antihématies de mouton;

b) Sérum de cheval antityphique (agglutination O);

c) Sérum de cheval antityphique (agglutination H).

1° L'essai sur le sérum de cheval antihématies de mouton a été réalisé en tous points comme l'expérience précédemment décrite; seuls varient les taux de dilution de l'immunsérum mis en jeu pour la titration.

Le tableau XII rend compte de nos résultats.

TABLEAU XII

	Dilution.....	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	9	15	20	32	47	> 60
	Monobromacétate à 5 p. 100	10	16	22	35	49	> 60
	Monobromacétate à 10 p. 100	11	16	23	37	53	> 60

2° Dans l'essai effectué avec le sérum de cheval antityphique (agglutination O) (*), nous avons utilisé une concentration en monobromacétate de 10 p. 100.

Les résultats sont réunis dans le tableau XIII.

TABLEAU XIII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (heures)	Témoin	15	17	21	25	
	Monobromacétate à 10 p. 100	18	20	23		

(*) L'immunsérum traité (0,1 cm³) est mis en présence d'une suspension de bacilles typhiques (0,9 cm³). Les tubes sont placés deux heures au bain-marie à 37° C, puis à la température du laboratoire.

3° Enfin, l'essai réalisé avec le sérum de cheval antityphique (agglutination H) (**) nous a donné des résultats comparables (tableau XIV).

TABLEAU XIV

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	7	10	14	31	54	
	Monobromacétate à 10 p. 100	5	9	13	16	37		

Il résulte de ces essais que le monobromacétate de sodium réagissant sur l'anticorps de cheval en retarde le pouvoir agglutinant.

C. — Action sur les anticorps de sérums humains

Nous avons mis en œuvre trois immunsérums :

a) Groupe A;

b) Groupe B;

c) Groupe O.

Les expériences ont été réalisées en tous points comme la précédente avec une solution de monobromacétate de sodium à 10 p. 100.

Le tableau XV indique les résultats relatifs à l'immunsérum groupe A, le tableau XVI à l'immunsérum groupe B, le tableau XVII à l'immunsérum groupe O.

TABLEAU XV

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	13	17	30	> 50
	Monobromacétate à 10 p. 100	3	10	16	22	> 50	

(**) Les tubes sont placés constamment au bain-marie à 37° C.

TABLEAU XVI

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	7	14	18	28	>50
	Monobromacétate à 20 p. 100	3	10	17	25		
	Monobromacétate à 10 p. 100	3	9	16	24		

TABLEAU XVII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	18	26	32
	Monobromacétate à 10 p. 100	3	9	14	20	30	

Il résulte de ces travaux que le monobromacétate de sodium retarde l'agglutination.

D. — Action du monobromacétate sur l'antigène

Les hématies de l'espèce mouton sont particulièrement sensibles à l'action hémolytique du monobromacétate. Nous avons donc réalisé nos essais sur le système hématies de mouton traitées par le monobromacétate - antisérum de cheval. Nous avons mis en jeu le monobromacétate à 1 p. 100.

Le tableau XVIII consigne nos résultats.

TABLEAU XVIII

	Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	5	12	14	20	28	34	42
	Hématies traitées	5 ½	13	16	23	30	37	45

Ces résultats montrent que le traitement de l'antigène par le monobromacétate amène un léger retard de l'agglutination.

E. — Conclusions concernant l'action exercée par le monobromacétate sur le phénomène d'agglutination spécifique

Divers essais immunologiques mettant en jeu le monobromacétate avaient déjà été effectués : Genevois et Mandillon [69] avaient montré jadis que le monobromacétate permettait de détruire la toxicité de la toxine diphtérique, tandis que le pouvoir antigénique ne se trouvait que légèrement atténué. Pautrizel et Tayeau [215] ont examiné en détail l'action du monobromacétate sur l'anticorps et l'antigène dans la réaction de précipitation spécifique. Les essais ont été réalisés avec le cheval et le lapin comme donneurs d'anticorps. Ces auteurs concluent qu'il existe une grande analogie entre l'effet exercé par le monobromacétate et celui produit par l'action du formol; seules des différences d'action, en fonction du *p*H, ont pu être signalées (Tayeau et Pautrizel [215]).

Dans tous les cas, quelle que soit l'espèce ayant fourni les anticorps, que ce soit l'antigène ou l'anticorps qui ait été traité par le monobromacétate, on observe un retard dans l'apparition de l'agglutination.

Nos constatations à propos de la réaction d'agglutination sont tout à fait conformes à celles de Pautrizel et Tayeau relatives à la réaction de précipitation.

Quelles sont les modifications apportées aux protéines par le monobromacétate ? Elles sont de plusieurs ordres.

Le monobromacétate se fixe sur les groupements NH_2 et réagit ainsi avec les amines (Thacher Clark) et les aminoacides (Genevois et Mandillon [69]).

Les protéines, elles aussi, réagissent avec le monobromacétate; ce dernier réagit avec 15 p. 100 environ des fonc-

tions amines (*) et avec les groupements sulfhydriles (Tayeau et Mlle Pissot [217]). Cette action entraîne des modifications dans les propriétés physiques des protéines traitées, concernant en particulier la solubilité et la coagulabilité (Tayeau et Mlle Pissot [217]).

Cette action intéresse probablement aussi le motif spécifique des agglutinines et les groupements déterminants des antigènes.

III. — ACTION DE LA NINHYDRINE SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS ET SUR LES ANTIGÈNES CORRESPONDANTS.

Nous avons étudié tout d'abord l'action de la ninhydrine (hydrate de tricétohydrindène) sur les anticorps agglutinants.

A. — Action sur les anticorps de lapin

Dans cette série d'essais, nous avons utilisé le sérum de lapin antihématies de mouton.

Nous avons réalisé tout d'abord diverses expériences afin de préciser la quantité de ninhydrine à mettre en jeu pour obtenir un effet efficace, sans toutefois produire de précipitation; cette quantité varie avec les sérums étudiés (voir Faure [62]). Nos essais montrent que l'on peut opérer de la façon suivante : on mélange 0,1 cm³ d'immunsérum, 0,1 cm³ d'eau physiologique et 0,02 cm³ de solution de ninhydrine à 1 p. 100. Le mélange est laissé une demi-heure au bain-marie à 37°; on complète avec de l'eau physiologique afin d'obtenir une dilution au 1/4.

Le sérum témoin est traité exactement de la même façon, mais l'eau physiologique remplace la solution de ninhydrine.

(*) Cette action limitée du monobromacétate explique qu'une forte dose de ce réactif n'apporte pas plus de modifications qu'une dose relativement faible.

La titration est effectuée en plaçant dans une série de tubes 0,1 cm³ du mélange ci-dessus plus ou moins dilué et 0,1 cm³ de la suspension d'hématies de mouton (à 2 p. 1.000).

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau XIX.

TABLEAU XIX

Dilution.....		1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1.1024	1/2.048
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	10	18	23	32	40	60		
	Ninhydrine à 1 p. 100	1	6	10	16	25	28	40	>60	

Une nouvelle expérience est réalisée en tous points de la même façon, mais la quantité de ninhydrine mise en jeu est deux fois moins élevée (tableau XX).

TABLEAU XX

Dilution.....		1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	10	18	23	32	40	60
	Ninhydrine à 1 p. 100	8	13	19	29	37	50

Il résulte de ces essais qu'un immunsérum agglutinant traité par la ninhydrine agglutine beaucoup plus rapidement son antigène.

B. — Action sur les anticorps de cheval

Nous avons effectué une nouvelle série d'expériences sur des immunsérums de cheval. Nous avons opéré dans les conditions décrites précédemment lors des essais relatifs au sérum de lapin (*).

(*) Les tubes étant placés à la température du laboratoire pour le sérum de lapin et au bain-marie à 37° pour le sérum de cheval.

Nous avons utilisé :

1° *Un sérum antihématies de mouton.*

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau XXI.

TABLEAU XXI

Dilution.....		1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	10	15	20	32	48	> 60
	Ninhydrine à 1 p. 100	14	20	26	36	56	> 60

Nous constatons un retard dans l'agglutination après action de la ninhydrine.

2° *Un sérum antityphique (agglutination O).*

Nous utilisons la même technique, mais dans ce cas avec de la ninhydrine à des concentrations plus faibles, et nous avons obtenu les résultats suivants (tableau XXII).

TABLEAU XXII

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (heures)	Témoin	15	17	21	25	
	Ninhydrine à 1 p. 100	Pas d'agglutination.				
	à 1 p. 200	Ibid.				
	à 1 p. 500	19	21	25		
	à 1 p. 1.000	17	19	23		
	à 1 p. 2.000	15	18	21	26	

La réaction d'agglutination ne se produit qu'à partir d'une dilution de ninhydrine au 1/500 avec toujours un net retard.

3° *Un sérum antityphique (agglutination H)* (voir nos résultats dans le tableau XXIII).

TABLEAU XXIII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	7	10	14	31	54	
	Ninhydrine à 1 p. 100	6	9	14	18	40		

Nous observons un retard dans l'agglutination à partir, cette fois, d'une concentration au 1/100.

4° *Un sérum antipara B* (tableau XXIV).

TABLEAU XXIV

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	15	23	29	75	
	Ninhydrine à 1 p. 100	20	33	70		

Il résulte de tous ces essais sur le sérum de cheval que, quelle que soit l'espèce productrice d'anticorps, l'agglutination est retardée lorsque la ninhydrine a réagi sur l'agglutinine.

C. — Action sur les anticorps humains

Nous avons étudié l'action de la ninhydrine sur divers sérums humains. Le mélange suivant est réalisé : 0,2 cm^3 de sérum humain, 0,06 cm^3 de solution de ninhydrine à 1 p. 100

et 0,14 cm³ d'eau physiologique; puis il est placé une demi-heure au bain-marie à 37°. Ensuite, la réaction d'agglutination est toujours effectuée suivant la même technique et à la température du laboratoire.

Les résultats sont consignés dans les tableaux XXV (sérum humain groupe A), XXVI (sérum humain groupe B), XXVII (sérum humain groupe O).

TABLEAU XXV

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	13	17	30	>40	
	Ninhydrine à 1 p. 100	3	10	17	23	>40		

TABLEAU XXVI

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	7	14	18	28	>40
	Ninhydrine à 1 p. 100	2 ½	9	17	21	34	

TABLEAU XXVII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	18	26	>40
	Ninhydrine à 1 p. 100	4	9	15	20	30	

Ces essais montrent que, dans le cas du sérum humain comme dans celui du sérum de cheval, la ninhydrine diminue la vitesse d'agglutination.

D. — Action sur l'antigène

Nous avons réalisé plusieurs expériences; la première d'entre elles avec des hématies humaines qui, on le sait (Neuzil et Breton [157]), supportent particulièrement bien l'action de la ninhydrine. L'antisérum mis en œuvre pour la titration provient également de l'Homme.

Après divers essais préliminaires que nous ne rapportons pas, nous avons utilisé le protocole suivant pour la « ninhydrisation » des hématies.

1° On met en présence 1,5 cm³ d'une suspension d'hématie du type B au 1/10, 0,2 cm³ de solution de ninhydrine à 1 p. 100 et 1,3 cm³ d'eau physiologique. Le mélange est alors placé au bain-marie à 37° pendant une demi-heure.

Les hématies témoin sont traitées de la même façon, mais la solution de ninhydrine est remplacée par de l'eau physiologique.

La titration est réalisée comme précédemment.

Le tableau XXVIII réunit les résultats que nous avons obtenus.

TABLEAU XXVIII

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	11	15	22	34	52
	Hématies traitées	4	12	17	23	36	56

L'expérience montre que la « ninhydrisation » de l'antigène — dans le cas du système hématies B - antisérum d'Homme — retarde l'agglutination.

2° Afin de voir si l'action exercée par la ninhydrine intéresse réellement l'antigène, nous effectuons une dernière série d'essais avec le système hématies de mouton - antisérum de lapin. Les hématies ont été traitées comme dans la première expérience.

Nos résultats (tableau XXIX) montrent que, si l'immunsérum correspondant aux hématies traitées provient de l'espèce mouton, on observe une légère accélération de l'agglutination.

TABLEAU XXIX

	Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	5	12	14	20	28	34	42
	Ninhydrine à 1 p. 100	4	11	13	19	26	32	45

Il résulte de ces essais que si la ninhydrine exerce un effet lorsqu'elle agit sur les hématies-antigènes, cet effet s'avère très limité.

E. — Conclusions concernant l'action exercée par la ninhydrine sur le phénomène d'agglutination spécifique

Nous avons constaté, dans cette série d'essais, que la ninhydrine agissant sur un immunsérum agglutinant augmente la vitesse d'agglutination si les anticorps proviennent du lapin et la retarde, au contraire, dans le cas du cheval.

Cette constatation est tout à fait parallèle à celle faite par Tayeau, Mlle Faure, Neuzil et Pautrizel [204, 205] sur les systèmes précipitants.

Pendant longtemps, les auteurs précités ont pensé pouvoir expliquer cette constatation par des différences de solubilité apportées aux diverses protéines sériques par la ninhydrine [203] : on sait, en effet, que, chez le lapin, les anticorps sont surtout localisés dans les fractions les moins solubles, désignées habituellement sous le nom d' « euglobulines », tandis que, chez le cheval, ils se trouvent le plus souvent dans la fraction « pseudoglobulines » ; or, la ninhydrine agit en diminuant la solubilité des

euglobulines, tandis qu'elle augmente, au contraire, la solubilité des pseudoglobulines. On pouvait donc penser que les anticorps de lapin, sous l'influence de la ninhydrine, étaient devenus moins solubles et, de ce fait, précipitaient plus rapidement, tandis que ceux de cheval, rendus plus solubles, précipitaient plus lentement [203].

Cette hypothèse s'est révélée par la suite inexacte, car un immunsérum de mulet antipolyholoside du charbon, dont les anticorps se trouvent situés dans les euglobulines, voit sa floculation retardée sous l'influence de la ninhydrine.

Une étude mettant en jeu la diffusion latérale de la lumière a permis d'étudier le comportement vis-à-vis de la ninhydrine des deux sérums, lapin et cheval : c'est l'avidité des sérums qui est, en réalité, modifiée sous l'influence de la ninhydrine : ce réactif augmente, en effet, l'avidité des anticorps de lapin, tandis qu'il diminue, au contraire, l'avidité des anticorps de cheval. Notons que le titre en anticorps ne subit aucune modification [62].

Les notions de solubilité ne sauraient donc être mises en jeu pour expliquer l'action de la ninhydrine; d'ailleurs, une étude récente montre le bien-fondé de cette assertion (Tayeau, Pautrizel et M^me^ Szersnovicz-Léglise [216]) : si, en effet, on étudie la réaction d'hémolyse, dans laquelle on ne saurait faire intervenir la solubilité, on constate que la ninhydrine augmente la vitesse d'hémolyse des immunsérums hémolytiques de lapin, tandis qu'elle retarde l'hémolyse par les immunsérums de cheval.

C'est donc bien en modifiant l'avidité des anticorps qu'intervient la ninhydrine.

Il est intéressant de signaler à ce sujet un important travail d'Eggerth [55, 56].

Cet auteur prétend que la ninhydrine possède la propriété d'augmenter le titre en anticorps des agglutinines ! Eggerth effectue ses titrations suivant la méthode classique, c'est-à-dire en cherchant la dilution limite de l'immunsérum permettant d'obtenir encore l'agglutination. Or,

cette dilution limite, on le conçoit et nous avons eu l'occasion de le constater dans toutes les expériences qui précèdent, est fonction de l'avidité des anticorps. L'augmentation du titre en agglutinines, signalée par Eggerth, correspond donc à une augmentation d'avidité des anticorps de l'immunsérum traité.

Quelles sont les modifications apportées par la ninhydrine aux protéines ?

La ninhydrine réagit avec les groupes NH_2 des protéines et transforme ces derniers en aldéhydes (Ruhemann [190], Schönberg, Moubasher et Mostafa [194]), mais elle réagit également avec les groupes SH (Tayeau, Marquevielle et Mme Marquevielle [218]). Or, certains de ces groupes peuvent très bien contribuer au groupement spécifique des anticorps. De plus, la ninhydrine apporte quelques modifications dans les propriétés physicochimiques des protéines traitées. Cette constatation n'explique cependant pas l'action opposée exercée par la ninhydrine sur l'avidité des anticorps, selon que l'on a affaire aux anticorps de lapin ou de cheval. Aucune explication de ce phénomène n'a pu être fournie jusqu'ici.

IV. — ACTION DU β-NAPHTO-QUINONE-4-SULFONATE SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS ET SUR LES ANTIGÈNES CORRESPONDANTS.

Ce composé chimique, plus communément désigné sous le nom de réactif de Folin, réagit avec les protéines. Il donne, comme la ninhydrine, la réaction de Strecker.

A. — Action sur les anticorps de lapin

Quelques essais préliminaires nous ont amené à traiter le sérum par 5 mg de réactif de Folin par cm^3. Le mélange suivant est réalisé : 0,1 cm^3 de sérum de lapin antihématies de mouton, 0,1 cm^3 d'eau physiologique et 0,05 cm^3 de solu-

tion de réactif de Folin à 1 p. 100, et placé pendant une demi-heure au bain-marie à 37°.

Un témoin est traité de la même façon, l'eau physiologique remplaçant simplement le réactif. La réaction d'agglutination est alors effectuée suivant la technique précédemment décrite. Le tableau XXX réunit nos résultats.

TABLEAU XXX

Dilution.....		1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	12	19	24	34	50	65
	Sérum traité	2 ½	8	12	20	28	42	55

Un nouvel essai (tableau XXXI) indique les résultats obtenus avec une quantité moindre de réactif de Folin (2 mg par cm^3 de sérum).

TABLEAU XXXI

Dilution.....		1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	9	13	20	28	40	56
	Sérum traité	2	9	13	20	28	40	56

Ces expériences montrent : la première, que le β-naphtoquinone-4-sulfonate, agissant sur l'anticorps, permet une accélération du pouvoir agglutinant du sérum traité; la seconde, que la dose de réactif à mettre en jeu doit être assez appréciable.

Cet essai laisse supposer que le réactif de Folin est moins actif que la ninhydrine. Pour vérifier le bien-fondé de cette assertion, nous réalisons, toujours avec le sérum de lapin, une dernière expérience dans laquelle nous comparons avec

un même sérum l'action de la ninhydrine et du β-naphto-quinone-4-sulfonate, à la même concentration (2 mg par cm³) (tableau XXXII).

TABLEAU XXXII

	Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1.024	1/2.048
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	10	13	20	28	40	56		
	Ninhydrine à 1 p. 100	1 ½	4	8	14	22	30	45	> 60	
	β-Naphto-quinone-4-sulfonate à 1 p. 100	2	10	13	20	28	40	56		

Il résulte de ces essais que le β-naphto-quinone-4-sulfonate de sodium possède la propriété d'activer le pouvoir agglutinant des immunsérums, mais il est moins actif que la ninhydrine.

B. — Action sur les anticorps de cheval

Un essai effectué avec divers immunsérums de cheval (4 mg de réactif de Folin par cm³) a donné les résultats suivants (tableau XXXIII) pour le sérum de cheval anti-hématies de mouton; tableau XXXIV pour le sérum de cheval antityphique (agglutination O); tableau XXXV pour le sérum de cheval antityphique (agglutination H).

TABLEAU XXXIII

	Dilution.....	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	10	15	20	32	48	> 60
	β-Naphto-quinone-4-sulfonate à 1 p. 100	13	18	24	34	51	> 60

TABLEAU XXXIV

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Temps d'agglutination (heures)	Témoin	15	17	21	25	
	Sérum traité	18	22	>25		

TABLEAU XXXV

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	7	10	14	31	54	
	β-Naphto-quinone-4-sulfonate à 1 p. 100	4	8	12	16	35	60	

Ces essais montrent que les immunsérums de cheval agglutinent plus lentement lorsqu'ils ont été préalablement traités par le β-naphto-quinone-4-sulfonate de sodium.

C. — Action sur les anticorps humains

Pour compléter notre étude mettant en œuvre le réactif de Folin, nous avons étudié divers sérums humains, en mettant toujours en jeu le même mode opératoire.

1° Les essais réalisés avec un sérum d'Homme (groupe A) (5 mg de réactif de Folin par cm^3 de sérum) se trouvent dans le tableau XXXVI.

TABLEAU XXXVI

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	7	14	18	28	>40
	Sérum traité	3	8	18	22	32	

2° Essais réalisés avec un sérum d'Homme (groupe B) (5 mg de réactif de Folin par cm³ de sérum) : tableau XXXVII.

TABLEAU XXXVII

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	13	17	30	>40
	Sérum traité	3	11	18	24	>40	

3° Essais réalisés avec un sérum d'Homme (groupe O) (5 mg de réactif de Folin par cm³ de sérum : tableau XXXVIII.

TABLEAU XXXVIII

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	18	26	>40
	Sérum traité	3	10	16	22	>40	

Les résultats obtenus avec les sérums d'Homme montrent que ces derniers se conduisent, vis-à-vis du β-naphtoquinone-4-sulfonate, comme les immunsérums de cheval.

D. — Action sur l'antigène

Nous avons réalisé des expériences sur divers types d'hématies.

1° Action du réactif de Folin sur les hématies de mouton.

Le mélange suivant est préparé :

1,5 cm³ de suspension d'hématies au 1/10;

0,2 cm³ de solution de réactif de Folin à 1 p. 1.000;

1,3 cm³ d'eau physiologique

et placé au bain-marie à 37° pendant une demi-heure.

Les hématies ainsi traitées sont mises en présence de l'antisérum de lapin correspondant.

Le tableau XXXIX réunit les résultats que nous avons obtenus.

TABLEAU XXXIX

Dilution.....		1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	5	12	14	20	28	34
	Hématies traitées	4	10	12	17	25	31

Le réactif de Folin agissant sur les hématies de mouton active leur agglutination par leur antisérum.. Il semble que cette constatation doit être rattachée à la nature de l'antisérum correspondant qui provient du lapin; on peut admettre, en effet, qu'un excès de réactif puisse réagir sur les anticorps au moment où l'on réalise le complexe antigène-anticorps. Les expériences suivantes doivent permettre de savoir s'il en est bien ainsi.

2° Etude du système hématies humaines (groupe A) - antisérum d'Homme.

L'expérience est réalisée en tous points comme la précédente. Le tableau XL rappelle nos résultats.

TABLEAU XL

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	7	12	18	22	28
	Hématies traitées	4	9	15	21	24	31

Nos résultats montrent que, dans cette expérience où l'immunsérum ne provient plus du lapin, le réactif de Folin retarde l'agglutination.

Un dernier essai confirmera le précédent.

3° Etude du système hématies (groupe B) - antisérum humain. Expérience réalisée comme les précédentes : tableau XLI comportant deux essais.

TABLEAU XLI

			Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Première expérience	Témoin		3	11	15	22	34	52
		Hématies traitées		5	13	19	25	37	55
	Deuxième expérience	Témoin		3	11	15	22	34	52
		Hématies traitées		4	13	18	26	38	56

Ces derniers essais montrent que l'action du réactif de Folin sur les hématies est minime et que les différences observées dans le temps d'agglutination doivent surtout être rattachées à l'action exercée par l'excès de réactif sur l'immunsérum mis en jeu.

E. — Conclusions concernant l'action exercée par le β-naphto-quinone-4-sulfonate sur le phénomène d'agglutination spécifique

Les expériences précédemment rapportées montrent la propriété que présente le réactif de Folin d'activer la vitesse d'agglutination des immunsérums de lapin et de retarder celle des immunsérums de cheval et d'Homme. Le réactif de Folin agit donc exactement comme la ninhydrine, mais son activité est nettement moins intense. Ces résultats sont en tous points parallèles à ceux obtenus avec les systèmes précipitants par Tayeau et Neuzil [211]; la conception unitaire des anticorps trouve dans toutes ces expériences de nouveaux arguments.

V. — ACTION DE L'ALLOXANE SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS

L'alloxane donne, comme la ninhydrine et le réactif de Folin, la réaction de Strecker avec les aminoacides; il était donc intéressant d'étudier son action sur les agglutinines.

A. — Action sur les anticorps de lapin

Cette expérience a été menée comme celle précédemment décrite, mettant en jeu le réactif de Folin et les immunsérums de lapin : système hématies de mouton - antisérum de lapin.

Deux essais ont été effectués : l'un avec 2 mg d'alloxane par cm³ de sérum, l'autre avec 16 mg par cm³ de sérum (tableau XLII).

TABLEAU XLII

	Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	10	13	18	27	40	55
	Alloxane 2 mg p. cm³	2	10	13	18	27	40	55
	Alloxane 16 mg p. cm³	3	12	16	22	38	45	60

Contrairement à la ninhydrine et au β-naphto-quinone-4-sulfonate de sodium, l'alloxane retarde l'agglutination des immunsérums de lapin.

B. — Action sur les anticorps de cheval

L'expérience est réalisée sur le système hématies de mouton - antisérum de cheval. Dose d'alloxane mise en jeu : 16 mg par cm³. Sa titration, effectuée comme précé-

demment, permet d'obtenir les résultats du tableau XLIII.

L'alloxane, dans cet essai, ne manifeste aucune action.

TABLEAU XLIII

Dilution.....		1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	9	15	20	32	47	>60
	Sérum traité	9	15	20	32	47	>60

C. — Action sur les anticorps humains

Système hématies A B.

L'expérience est en tous points réalisée comme la précédente. Nos résultats se trouvent dans le tableau XLIV.

TABLEAU XLIV

Dilution.....		1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	12	18	26	32	
	Sérum traité	14	22	29	35	

L'alloxane exerce une légère action retardatrice dans l'agglutination des immunsérums humains.

D. — Conclusions concernant l'action exercée par l'alloxane sur le phénomène d'agglutination spécifique.

Contrairement à la ninhydrine et au réactif de Folin qui permettent de réduire le temps d'agglutination des immunsérums de lapin, l'alloxane, qui pourtant donne, comme les précédents réactifs, la réaction de Strecker, augmente la durée de ce temps.

Cette constatation est absolument identique à celle faite par Tayeau et Neuzil [211] sur les sérums précipitants.

Aucune explication satisfaisante ne peut être fournie, dans l'état actuel de nos connaissances, sur cette action différente exercée sur les immunsérums de lapin par la ninhydrine et l'alloxane.

VI. — ACTION DE L'ISATINE SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS

L'isatine fait partie des nombreux dérivés donnant avec les aminoacides la réaction de Strecker.

Nous avons réalisé avec ce réactif des essais en tous points comparables à ceux effectués avec l'alloxane. La faible solubilité dans l'eau de l'isatine nous a cependant obligée à utiliser des quantités assez minimes de ce réactif.

A. — Action sur les anticorps de lapin

Un essai effectué sur le système hématies de mouton - antisérum de lapin (2 mg par cm³ de sérum) donne les résultats suivants (tableau XLV).

TABLEAU XLV

Dilution.....		1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	20	30	40	55
	Sérum traité	2	8	12	20	30	40	55

B. — Action sur les anticorps de cheval

Essai réalisé comme le précédent, avec le système hématies de mouton - antisérum de cheval (2 mg d'isatine par cm³ de sérum) (tableau XLVI).

TABLEAU XLVI

		Dilution.....	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin		9	15	20	32	47	> 60
	Sérum traité		9	15	20	32	47	> 60

C. — Action sur les anticorps humains

Essai réalisé comme précédemment, avec le système hématies humaines et antisérum correspondant (groupe O, 8 mg d'isatine par cm³ de sérum (tableau XLVII).

TABLEAU XLVII

		Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin		12	18	26	32	
	Sérum traité		12	18	26	32	

D. — Conclusions concernant l'action exercée par l'isatine sur le phénomène d'agglutination spécifique.

Il résulte des essais précédemment décrits que l'isatine, à la dose à laquelle nous l'avons utilisée, ne présente aucune action sur le phénomène d'agglutination spécifique. Ces résultats sont absolument conformes à ceux obtenus avec les systèmes précipitants (Tayeau et Neuzil [211]).

Il est probable que si l'isatine ne manifeste aucune action sur le phénomène d'agglutination, c'est en raison de sa faible solubilité dans l'eau : il n'est pas possible, en effet, avec l'isatine, d'obtenir des solutions aussi concentrées qu'avec les autres réactifs.

Les divers composés, comme la ninhydrine, le β-naphtoquinone-4-sulfonate de sodium, l'alloxane et l'isatine, donnent tous la réaction de Strecker [211] : ce sont des oxydants; signalons d'ailleurs à ce sujet que l'oxygène « activé », sous forme d'ozone, détruit les agglutinines (Matson et Fenning [143])... ou tout au moins retarde l'agglutination.

Il semblerait donc que les oxydants constituent souvent des agents inhibiteurs de la réaction antigène - anticorps.

Tayeau, Neuzil et Marquevielle [212] ont réalisé une étude systématique de la réaction de précipitation spécifique; ces auteurs ont étudié l'action de nombreux réactifs oxydants et réducteurs sur le pouvoir précipitant de l'anticorps; tous les oxydants, à des degrés variés, amènent un retard à la précipitation (sauf le cas paradoxal de la ninhydrine et du β-naphto-quinone-4-sulfonate sur les anticorps de lapin). Quelle peut être la fonction sensible à ces divers réactifs et participant au motif spécifique des anticorps ? Il est très difficile de répondre à cette question; il semblerait que les groupements SH pourraient intervenir en se transformant en — S — S — ou en — SO_3H; par ailleurs, les réactifs non oxydants retardant la précipitation, comme le formol par exemple, réagissent avec les groupements SH.

Ces divers points sont actuellement à l'étude dans le laboratoire où nous avons travaillé.

VII. — ACTION DES POLYMÈRES SUR LES ANTICORPS AGGLUTINANTS

Les polymères synthétiques, dont l'industrie s'est considérablement développée depuis quelques années, méritent d'être appliqués à la réaction antigène - anticorps. Diverses substances naturelles à poids moléculaire élevé, comme le glycogène et l'héparine, avaient déjà fait l'objet de recherches dans ce domaine (Sulzer [198]); il était donc tout

naturel de penser que les polymères synthétiques allaient, eux aussi, manifester une certaine activité.

Nos essais ont porté sur les immunsérums de lapin, de cheval et d'homme.

Nous avons mis en jeu, pour cette étude, le carbowax 6.000, polymère d'oxyde d'éthylène correspondant à un polyéthylène glycol de poids moléculaire d'environ 6.000.

A. — Action du carbowax 6.000 sur les anticorps de lapin

Dans ces expériences, la solution de carbowax est simplement ajoutée au mélange antigène - anticorps. Le mélange suivant est donc préparé :

0,1 cm³ d'immunsérum à différentes dilutions;

0,1 cm³ de suspension d'hématies de mouton à 2 p. 1.000;

0,05 cm³ d'une solution de carbowax 6.000 à 10 p. 100.

Dans le témoin, l'eau physiologique remplace la solution de carbowax.

Le tableau XLVIII indique nos résultats.

TABLEAU XLVIII

	Dilution.....	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	6	12	22	35	56	71
	Carbowax « 6.000 » à 10 p. 100	4	9	15	31	51	67

B. — Action du carbowax 6.000 sur les anticorps de cheval

Nous avons réalisé divers essais : l'un avec un immunsérum antihématies de mouton, l'autre avec un immunsérum antityphique (agglutination H).

Les expériences ont été réalisées en tous points comme celle décrite pour l'immunsérum de lapin; seules varient les dilutions de l'immunsérum en vue de la titration.

1° Le tableau XLIX donne les résultats obtenus avec le sérum de cheval - antihématies de mouton.

TABLEAU XLIX

Dilution.....		1/200	1/400	1/800	1/1.600	1/3.200
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	13	18	30	50	> 60
	Carbowax « 6.000 » à 10 p. 100	12	15	28	47	> 60

2° Le tableau L indique les résultats obtenus avec le sérum antityphique (agglutination H).

Rappelons la composition du mélange mis en œuvre :

0,05 cm³ de sérum plus ou moins dilué;

0,45 cm³ de suspension typhique;

0,10 cm³ de solution carbowax 6.000 à 10 p. 100.

TABLEAU L

Dilution.....		1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1.024
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	3	7	9	14	32	54	> 120			
	Carbowax « 6.000 » à 10 p. 100	2	7	9	13	30	50	60	72	120	

C. — Action du carbowax 6.000 sur les anticorps humains

Nous avons réalisé divers essais avec du sérum humain des groupes B, A et O.

Nos expériences ont consisté à préparer des mélanges du type suivant :

0,1 cm³ de sérum décomplémenté plus ou moins dilué;

0,1 cm³ de suspension d'hématies à 2 p. 1.000;

0,05 cm³ de solution de carbowax à 10 p. 100.

Le tableau LI consigne nos résultats pour le sérum humain anti A - B; le tableau LII pour le sérum humain anti A.

TABLEAU LI

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	8	12	18	26	32	
	Carbowax « 6.000 » à 10 p. 100	1	6	10	15	22	29	52

TABLEAU LII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin	2	7	14	18	28	32	
	Carbowax « 6.000 » à 10 p. 100	1	5	12	16	25	29	>40

D. — Conclusion concernant l'action exercée par les polymères sur la réaction d'agglutination

Il résulte de tous les essais précédemment décrits que le carbowax 6.000 possède la propriété d'activer l'agglutination spécifique. Remarquons que les sérums de lapin sont plus sensibles que les sérums de cheval et d'homme. Cette constatation, qui semble très générale, est valable également pour certains adjuvants de la réaction de précipitation antigène - anticorps, comme la ninhydrine par exemple (Faure [62]).

Certaines recherches avaient déjà été effectuées concernant l'action de certains polymères sur les systèmes agglutinants : Goudemand [77] note que la mise en œuvre de poly-vinyl-pyrrolidone dans la recherche des anticorps anti-

Rh incomplets conduirait à un titre plus élevé en anticorps. C'est à une combinaison identique que parviennent, avec d'autres systèmes, Hummel, Witzenhausen et Pohl [101]. Il est intéressant de rapprocher de cette conclusion celles émises par Eggerth [55, 56], auxquelles nous avons fait précédemment allusion; il semble, en effet, que l'augmentation du titre en anticorps dont parlent Goudemand et Pohl corresponde en réalité à une augmentation de l'avidité.

Frazer et Calvin [67] effectuent une étude sur des systèmes antihématies et restent sceptiques sur l'intérêt pratique des polymères.

Des travaux du même ordre ont été effectués sur les immunsérums précipitants avec la poly-vinyl-pyrrolidone (Neuzil, Pautrizel et Marquevielle [160]) et avec les carbowax (Neuzil, Marquevielle et Tayeau [213]). Les résultats obtenus dans l'agglutination sont absolument parallèles à ceux obtenus dans la précipitation spécifique.

Comment expliquer le pouvoir exercé par les polymères d'accélérer la réaction antigène - anticorps ?

Une intéressante étude a été réalisée sur ce point par Neuzil [156]. Cet auteur a étudié systématiquement l'effet exercé par le carbowax 6.000 sur la réaction de précipitation spécifique et la solubilité des diverses fractions protéidiques du sérum sanguin.

Ses résultats lui permettent les constatations suivantes :

1° Pour chaque fraction protéidique en solution, il existe une concentration en polymère permettant de produire l'apparition d'un trouble. Le trouble ne correspond pas à la formation d'un précipité, mais à la *coacervation* des protéines par le poly-éthylène-glycol;

2° Pour une fraction protéidique donnée, la concentration minimum en polymère nécessaire pour obtenir la coacervation se montre d'autant plus élevée que le poids moléculaire du polymère est plus bas;

3° Enfin, pour un poly-éthylène-glycol de poids molécu-

laire donné, la coacervation se produit pour une concentration d'autant plus faible que la fraction protéidique mise en jeu est moins soluble, ce qui correspond à un poids moléculaire plus élevé. Ce sont donc les protéines de poids moléculaire le plus élevé, les globulines et particulièrement les γ-globulines - anticorps, qui donneront le plus facilement des coacervats avec les poly-éthylène-glycols.

Si, donc, dans un sérum, on introduit du poly-éthylène-glycol de poids moléculaire 6.000, à la concentration de 3 p. 100 par exemple, le mélange reste parfaitement limpide. La concentration mise en jeu est, en effet, trop faible pour coacerver l'une des fractions protéidiques et en particulier les γ-globulines. A cette concentration, la coacervation ne pourrait se produire que si le sérum contenait des protéines de poids moléculaire plus élevé que les γ-globulines.

Or, c'est bien ce qui se passe lorsqu'on met en jeu un immunsérum auquel l'antigène homologue a été ajouté. L'union de l'antigène avec l'anticorps forme un complexe de poids moléculaire plus élevé que l'un de ses deux constituants. Ce complexe peut alors coacerver avec le polymère hydrosoluble, à condition toutefois que la concentration de ce dernier dans le milieu ait été judicieusement établie.

Les polymères hydrosolubles permettent donc l'insolubilisation d'agrégats antigène - anticorps d'une taille plus petite que celle habituellement nécessaire pour la précipitation.

Cette hypothèse de Neuzil peut-elle être appliquée à la réaction d'agglutination ? Il semble que non, car le facteur solubilité ne doit jouer qu'un rôle secondaire dans la réaction d'agglutination.

Ce rôle, cependant, ne doit pas être négligeable, car l'effet des polymères est plus efficace sur la précipitation que sur l'agglutination; un autre facteur doit certainement intervenir, et c'est ce qu'il ressort de notre étude mettant

en jeu l'agglutination; l'état de nos connaissances, malheureusement, ne permet pas encore de le mettre en évidence.

VIII. — CONCLUSIONS GÉNÉRALES DU CHAPITRE PREMIER

Nous avons étudié, dans ce chapitre, l'action exercée par divers réactifs sur les anticorps agglutinants et sur quelques-uns des antigènes correspondants.

Nous avons étudié en particulier l'action du formol, du monobromacétate, de la ninhydrine, du β-naphto-quinone-4-sulfonate, de l'alloxane, de l'isatine et du carbowax 6.000.

La ninhydrine et le β-naphto-quinone-4-sulfonate possèdent la propriété d'augmenter l'avidité des anticorps agglutinants de lapin; ces deux réactifs diminuent, au contraire, celle des anticorps de cheval ou d'homme.

Les polymères et le carbowax 6.000, en particulier, augmentent l'avidité de tous les anticorps, quelle que soit leur origine.

Le formol, le monobromacétate, l'alloxane diminuent l'avidité de tous les anticorps.

Ces résultats sont tout à fait identiques à ceux obtenus avec les systèmes précipitants. Ils nous permettent d'éliminer toute théorie faisant exclusivement intervenir des modifications de solubilité des anticorps et d'admettre que les réactifs étudiés, en modifiant l'avidité de l'anticorps, agissent directement sur son motif spécifique.

CHAPITRE II

ROLE DES LIPIDES SÉRIQUES DANS LA RÉACTION D'AGGLUTINATION SPÉCIFIQUE (*)

Le sérum sanguin contient des lipides, environ 5 à 10 g par litre. Ces lipides se maintiennent en phase aqueuse grâce aux liaisons qui les unissent aux protéines, l'ensemble formant les cénapses lipidoprotéidiques (Machebœuf [134]). Aussi, lorsque par les techniques habituelles on isole du sérum une fraction protéidique, des lipides se trouvent entraînés avec les protéines. Ces lipides exercent une influence sur les propriétés physicochimiques des protéines et en particulier sur leur solubilité [201, 20]. Les anticorps n'échappent pas à cette règle et contiennent toujours des lipides, même après purification (Chow et Goebel [36]).

Pour priver un sérum de ses lipides en vue d'études immunologiques, il faut mettre en œuvre des techniques dénaturant les protéines le moins possible. Dans ce but, on peut utiliser la méthode de Hardy et Gardiner [84], consistant à traiter le sérum par l'alcool absolu, puis par l'éther anhydre à une température inférieure à — 10° (**); on peut

(*) Pour la rédaction de ce chapitre, nous avons fait des emprunts à un travail de Tayeau [202].

(**) La technique de Hardy et Gardiner a été modifiée par Young [240] puis par Hewitt [92]. Elle permet d'extraire entre 90 et 96 p. 100 des lipides sériques.

encore appliquer la technique de Piettre et Vila [177] à l'acétone et l'éther (*), ou bien celle de Delsal [46] au méthylal-méthanol. Signalons, enfin, la technique de Machebœuf et Tayeau [138] mettant en jeu les savons et l'éther, mais utilisable seulement pour la délipidation des globulines.

Hardy et Gardiner ont appliqué leur technique à l'immunologie en montrant que le sérum antidiphtérique conserve, après extraction de ses lipides, ses propriétés antitoxiques.

Plus tard, Hartley [85] a recherché le rôle joué par les lipides dans le phénomène de précipitation spécifique. Travaillant d'abord avec le système sérum de cheval - antisérum de lapin, et utilisant la technique de délipidation de Hardy et Gardiner, cet auteur montre que si la délipidation du sérum antigène ou du sérum anticorps amène un net rétrécissement de la zone de floculation, la délipidation des deux sérums en provoque la suppression. La délipidation complète du sérum anticorps seul suffit généralement, d'ailleurs, à inhiber la précipitation [214]. Hartley montre, de plus, que la délipidation du sérum antidiphtérique ne permet plus à ce dernier de floculer en présence de la toxine correspondante. Ces résultats, confirmés par Linderström-Lang et Schmidt [28], ont pu être étendus par la suite à d'autres systèmes précipitants (Horsfall et Goodner [98], Trensz [222], Shosch [70], Delage [45], Neuzil [155], etc.).

Les divers lipides du sérum sanguin ne sont pas tous responsables au même titre de l'insolubilisation du précipité antigène - anticorps. La richesse particulière en cholestérol de certains précipités spécifiques (Douglas et Dudley [49]) pouvait laisser supposer que cet alcool jouait un rôle dans la formation ou la précipitation du complexe. Mettant en œuvre la technique de Tayeau [199], permettant d'enlever

(*) La technique de Piettre, modifiée par Adnot [2] et surtout par Saïas [191], utilise l'acétone et l'éther anhydre à une température inférieure à — 5°. Cette technique, plus rapide que celle de Hardy et Gardiner, ne permet pas une extraction aussi complète.

quantitativement et électivement le cholestérol sérique, on a pu montrer que si l'on prive le sérum antidiphtérique de son cholestérol, les propriétés floculantes ne subissent aucune modification (Tayeau et Neuzil [210]). Des observations identiques ont été notées avec d'autres systèmes immunologiques (Tayeau, Neuzil et Pautrizel [214]). Le cholestérol sérique ne joue donc aucun rôle dans la floculation, et il semble qu'il faille attribuer principalement aux phosphatides la propriété de favoriser l'insolubilisation des complexes antigène - anticorps (*). Cette conception trouve un solide argument dans les expériences réalisées par Horsfall et Goodner [98] : ces auteurs ont étudié la précipitation spécifique du sérum antipneumococcique de cheval et de lapin par l'antigène polyholosidique correspondant. Après avoir noté que la délipidation de l'immunsérum amène la disparition du phénomène de floculation, ils parviennent à restituer aux sérums délipidés leurs propriétés floculantes en les additionnant d'une suspension de phosphatides (lécithines avec l'immunsérum de cheval, céphalines avec l'immunsérum de lapin). Cette intéressante constatation ne saurait cependant être généralisée, et la fixation de phosphatides aux protéines (technique de Hofer [95]) d'un sérum antidiphtérique délipidé ne restitue nullement à cet immunsérum ses propriétés floculantes [206]. Peut-être la nature de la liaison phosphatides - protéines jouerait-elle le rôle essentiel [174] ?

Ces diverses observations mettent en évidence l'importance des lipides sériques et plus précisément des phosphatides dans la précipitation spécifique. Il importe de noter encore à ce sujet que les lipides n'interviennent pas dans la formation du complexe antigène - anticorps : un immunsérum se combine aussi rapidement avec son antigène après qu'avant délipidation (Tayeau et Marquevielle [208]).

Cette propriété particulière des phosphatides se trouve-

(*) Les phosphatides semblent également responsables de l'insolubilité dans l'eau des euglobulines du sérum sanguin (Tayeau [200]).

t-elle liée à la nature de ces substances ? Il n'en est rien, car si l'on traite un immunsérum délipidé de lapin par la ninhydrine (1 p. 100, pendant une demi-heure à 37°), on voit réapparaître les propriétés floculantes de ce sérum sans que soient modifiés ni sa spécificité, ni son titre en anticorps (Tayeau, Mlle Faure, Neuzil et Pautrizel [206, 207]). Connaissant l'influence particulière exercée par la ninhydrine sur la solubilité des euglobulines au sérum de lapin [203] (*), il paraît plausible de penser que les lipides interviennent simplement par leurs groupements hydrophobes en diminuant la solubilité des complexes antigène - anticorps formés.

Cette différence de solubilité ne saurait cependant expliquer à elle seule la disparition des propriétés floculantes. Un récent travail de Tayeau et Marquevielle [208] mettant en œuvre la diffusion latérale de la lumière montre que l'avidité intervient également, car un immunsérum délipidé met beaucoup plus de temps qu'un sérum normal pour former des aggrégats d'une taille donnée.

Il y aurait donc deux raisons pour lesquelles la délipidation d'un immunsérum empêche la précipitation en présence de l'antigène correspondant : une diminution de l'avidité et une augmentation de la solubilité des anticorps.

Il semble que cette constatation doive être encore complétée par une remarque; de nombreux essais effectués avec des immunsérums délipidés à divers degrés montrent qu'il n'y a pas disparition des propriétés floculantes, mais seulement retard de la floculation; cependant, lorsque ce dernier est très grand, on arrive parfois à confondre la floculation vraie et la dénaturation des protéines entraînant leur insolubilisation. Cette remarque rend compatibles les recherches de Tayeau et collaborateurs [205] et celles de Krueger et Heidelberger [113].

Quelques recherches ont déjà été effectuées en ce qui

(*) On sait que, chez cet animal, c'est la fraction euglobuline qui contient la majorité des anticorps.

concerne le rôle des lipides sériques dans le phénomène d'agglutination spécifique.

Horsfall et Goodner [98], puis Oikawa [163, 164] ont signalé que la délipidation d'un sérum antipneumococcique lui enlève son pouvoir agglutinant.

Par ailleurs, Delage [45] et Merril et Fleischer [144] estiment que la délipidation n'influence pas le pouvoir agglutinant.

Doit-on s'étonner, à priori, de ces conclusions divergentes ?

Il semble que non, car le sérum antipneumococcique, étudié par Horsfall et Goodner [98] et par Oikawa [163, 164], présente des propriétés assez exceptionnelles. Nous avons, en effet, signalé plus haut que le sérum antipneumococcique précipitant récupère ses propriétés floculantes par addition de certaines phosphatides [163]; or, rien de semblable ne se passe avec les autres immunsérums (Pautrizel [174]).

Devant ces contradictions, nous avons décidé de reprendre cette étude. Nous avons alors étudié en détail le rôle joué par les lipides sériques sur les sérums suivants :

Sérum de lapin antihématies de mouton, sérum de cheval antihématies de mouton, sérum de cheval antityphique (agglutination O), sérum de cheval antityphique (agglutination H), sérum de cheval antigallinarum, sérum de cheval antiparatyphique B, sérum humain anti A B.

Pour la délipidation, nous avons mis en œuvre la technique de Hardy et Gardiner [94].

a) *Immunsérum de lapin.* — Nous avons étudié parallèlement le temps d'agglutination du système hématies de mouton - antisérum de lapin et hématies de mouton - antisérum de lapin délipidé.

Le tableau LIII indique les résultats que nous avons obtenus.

TABLEAU LIII

		Dilution.....	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin		2	6	12	22	35	55	>60
	Sérum délipidé		3	9	15	27	45	60	>60

Cette expérience montre que la délipidation de l'immunsérum n'empêche pas l'agglutination, mais elle la retarde d'une manière notable.

b) *Immunsérum de cheval.* — Nous rapportons les résultats obtenus avec le système bacille d'Eberth - antisérum de cheval (agglutination H) (tableau LIV).

TABLEAU LIV

		Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin		3	7	10	14	31	>60	
	Sérum délipidé		4	9	13	18	45		

Ici encore, nous constatons que la délipidation retarde l'agglutination.

Nous avons désiré confirmer cet essai en mettant en jeu d'autres systèmes.

Pour cela, nous avons étudié les systèmes suivants :

Hématies de mouton - antisérum de cheval, bacille paratyphique B - antisérum de cheval, bacille typhique - antisérum de cheval (agglutination O), bacille gallinarum - antisérum de cheval.

Dans tous les cas, la délipidation de l'immunsérum a retardé l'agglutination.

Si l'on étudie cette agglutination par la technique de la lecture macroscopique après centrifugation, on trouve que la dilution maximum de sérum provoquant l'agglutination est plus grande avec le sérum normal qu'avec le sérum délipidé. C'est ce qu'il ressort des résultats indiqués dans le tableau LV.

TABLEAU LV

Immunsérum	Dilution maximum provoquant encore l'agglutination	
	Sérum normal	Sérum délipidé
Sérum antiparatyphique B (agglutination O)	1/16	1/2
Sérum antigallinarum	1/16	1/4
Sérum antityphique (agglutination O)	1/16	1/8

Ces résultats expliquent que certains auteurs, étudiant l'action d'adjuvants variés sur la réaction d'agglutination, aient parlé de variations de titre en anticorps. Il s'agit, en réalité, de modifications de l'avidité.

c) *Immunsérums humains.* — Nous avons effectué également un essai avec un immunsérum anti A B.

Nos résultats sont réunis dans le tableau LVI.

TABLEAU LVI

		Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Temps d'agglutination (minutes)	Témoin		3	8	12	18	26	
	Sérum délipidé		5	12	17	24	33	

Ils montrent que les sérums humains se comportent comme ceux de lapin et de cheval et que la délipidation amène un retard dans l'agglutination.

Discussion. — Pour expliquer la disparition du pouvoir floculant après délipidation des immunsérums précipitants, nous avons invoqué deux arguments :

1° Une diminution de l'avidité;

2° Une augmentation de la solubilité des anticorps.

Seul doit intervenir dans l'agglutination le premier argument. Un sérum agglutinant délipidé doit donc agglutiner plus lentement qu'un sérum normal et l'effet produit par la délipidation doit être moins sensible sur les sérums agglutinants que sur les sérums précipitants. C'est bien ce que nous avons observé au cours de nos expériences.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES DU CHAPITRE II

La délipidation des sérums agglutinants amène un retard du phénomène d'agglutination. Nous discutons les raisons de cette modification.

CHAPITRE III

RECHERCHES SUR L'AGGLUTININE DITE « INCOMPLÈTE »

Les méthodes classiques de mise en évidence des anticorps par l'agglutination directe s'avèrent souvent incapables de prouver l'existence d'anticorps dits « incomplets » ou « bloquants », d'où la nécessité de recourir à une nouvelle méthode plus sensible d'hémagglutination indirecte. Celle-ci consiste en une agglutination des érythrocytes sensibilisés par fixation d'anticorps « bloquants » ou « incomplets »; ces anticorps joueront dans le deuxième temps de la réaction le rôle de molécules antigéniques et seront agglutinés par les immunsérums correspondants.

Nous avons vu dans un précédent chapitre qu'après action sur l'immunsérum, le formol retarde l'agglutination d'un système et amène une diminution du *titre* en agglutinines.

Nous nous sommes alors demandée si, en prolongeant l'action du formol, il était possible d'inhiber complètement la réaction d'agglutination directe et de révéler ensuite la fixation de l'anticorps formolé sur l'hématie par la réaction d'hémagglutination indirecte.

C'est dans cet esprit que nous avons traité des sérums humains anti A B par des solutions de formol au 1/2, 1/5, 1/10 pendant vingt-quatre heures au bain-marie à 37°.

Pour ces concentrations en formol, et dans ces conditions opératoires, les hématies A B ne sont plus agglutinées par le sérum anti A B après un contact de deux heures au bain-marie. Il s'est formé quand même un complexe antigène - anticorps, puisqu'on peut le mettre en évidence lors d'un deuxième temps, si l'on emploie un sérum anti-homme au 1/10.

TABLEAU LVII

	Dilution.....	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Temps d'agglutination (minutes)	Formol 1/2			>56	56	50	34	42
	Formol 1/5		42	34	27	19	24	22
	Formol 1/10	>50	40	22	16	18	22	>22

Dans une autre expérience, nous avons traité des sérums de cheval antihématies de mouton par différentes solutions de formol pendant vingt-quatre heures au bain-marie à 37° ; les globules rouges de mouton lavés conservent la propriété de s'unir à ces sérums formolés; il se forme à la surface de l'hématie un complexe antigène - anticorps, mais la réaction n'est pas visible étant donné le manque d'avidité des anticorps. L'anticorps serait transformé en une « forme univalente » par action du formol.

Pour révéler la sensibilisation de l'hématie, nous ajoutons un sérum de lapin anticheval décomplémenté et dilué au 1/20. Nous obtenons alors une réaction d'agglutination. L'érythrocyte, dans ce deuxième temps, sert simplement de support : son rôle est passif.

Suivant la concentration en formol, nous obtenons les résultats inscrits sur la courbe ci-contre.

Les anticorps de cheval antihématies de mouton jouent le rôle d'anticorps dans le premier temps de la réaction, et d'antigènes dans le second temps; par conséquent, le formol semble agir principalement sur les « groupements spéci-

fiques » : il empêche en effet, partiellement, la réaction lors du premier temps, c'est-à-dire lorsque le sérum de cheval antihématies de mouton se comporte comme anticorps; dans le second temps, où il se comporte comme antigène, la réaction peut s'effectuer, la zone s'élargissant

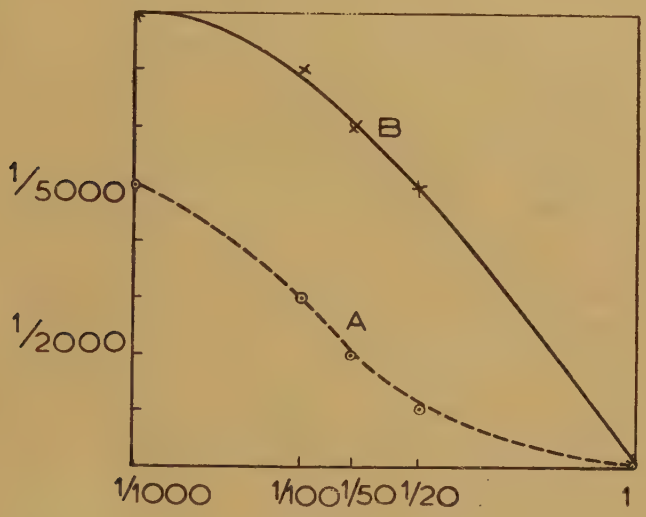

Fig. 4.

Courbe représentative des variations du taux de dilution limite (permettant l'agglutination) en fonction de la concentration en formol mise en œuvre.

Ordonnées : taux de dilution du sérum; *abscisses :* log. de la concentration en formol; *courbe A :* agglutination des hématies par l'immunsérum « formolé »; *courbe B :* hémagglutination indirecte (addition du sérum de lapin anticheval au complexe antigène hématie-antisérum de cheval « formolé »).

plus ou moins suivant la concentration en formol. Le formol semblerait donc avoir une action plus forte sur les *motifs spécifiques* que sur les *groupements déterminants* dans le cas où ces éléments se trouvent sur la même molécule.

Dans le même ordre d'idées, nous avons étudié comparativement l'action du formol sur les réactions d'hémagglutination et de précipitation, le sérum antihématies de cheval

ayant été traité par du formol au 1/10, puis laissé au bain-marie à 37° pendant vingt-quatre heures.

Dans le cas de la précipitation, le sérum formolé, jouant le rôle d'antigène, est mis en contact avec un sérum anti-cheval - anticorps : la primofloculation a lieu pour une concentration au 1/800 en anticorps.

Dans la réaction d'hémagglutination, le sérum de cheval antihématies de mouton, anticorps dans le premier temps, en contact avec des hématies de mouton, ne donne pas de réaction d'agglutination pour une dilution du sérum au 1/800, alors que, pour cette même dilution, on observe une réaction dans le second temps, le sérum de cheval anti-hématies se comportant comme antigène.

L'agglutination apparaît plus rapidement que la précipitation du fait, semblerait-il, de l'étalement des « groupements déterminants » à la surface de l'hématie.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

Le formol exerce une action beaucoup plus nette sur les *motifs spécifiques* que sur les *groupements déterminants*.

CHAPITRE IV

RECHERCHES SUR LA SPÉCIFICITÉ DU SECOND TEMPS DE LA RÉACTION D'AGGLUTINATION

Nous ne croyons pas superflu, en abordant ce dernier chapitre, de rappeler l'essentiel de la théorie de Bordet, que nous avons précédemment décrite (voir p. 27).

Selon cet auteur, la réaction antigène-anticorps comprend deux temps : dans un premier temps, les molécules d'antigènes s'unissent aux molécules d'anticorps. Ce phénomène, qui fait intervenir les forces spécifiques, n'est pas visible; dans un second temps, les complexes antigène-anticorps s'agglomèrent; il en résulte soit l'agglutination, soit la précipitation. Ce second temps serait uniquement dû à des modifications de charge électrique et n'affecterait, selon Bordet, aucun caractère spécifique. Cette seconde phase représenterait donc tout simplement un phénomène physique concomitant à la combinaison de l'antigène avec l'anticorps (première phase) et non une réaction dans laquelle participeraient également les forces spécifiques [32].

Les avis sur ce point sont cependant partagés et plusieurs auteurs (Marrack [141], Heidelberger et Kendahl [89]) admettent que les forces spécifiques interviennent également dans le second temps.

Les premières recherches effectuées sur ce point portent justement sur la réaction d'agglutination spécifique.

Etudiant l'agglutination dans un mélange contenant deux antigènes différents (bactéries et hématies) et leurs anticorps respectifs, Topley, Wilson et Duncan [221] ont observé la présence de flocons différents, les uns composés exclusivement de cellules d'une espèce et les autres flocons constitués par les cellules de l'autre espèce.

Cette observation, qui semblait résoudre nettement le problème de la spécificité du deuxième stade de la réaction, ne paraît pas devoir être généralisée : si l'on effectue, en effet, l'expérience précédente avec du bacille de Friedlander et des globules rouges comme antigènes en présence de leurs anticorps, on peut observer la présence de flocons mixtes (Abramson [1]). D'autre part, Hocker et Boyd [96], opérant sur des mélanges de globules humains et aviaires en présence des hémagglutinogènes correspondants, ont noté également la présence de flocons mixtes, ce qui éliminerait la nécessité d'intervention de forces spécifiques dans l'agglutination.

Le problème semblait donc difficile à résoudre.

Wiener et Herman [232] ont alors effectué des recherches calquées sur les essais précédents, qui leur ont permis de conclure que l'existence de flocons mixtes constitue l'exception. Ces auteurs n'ont obtenu de flocons mixtes qu'avec quelques systèmes seulement, et ils se demandent si, dans ces derniers cas, il n'existerait pas une certaine similitude dans la structure des antigènes mis en jeu; à ce sujet, ils exposent l'une de leurs expériences au cours de laquelle ils ont obtenu des agrégats mixtes par mélange d'une suspension de pneumocoque type XIV avec une suspension d'hématies humaines auxquelles ils avaient simplement ajouté le sérum antipneumococcique type XIV. Cet antisérum donne donc des réactions d'agglutination croisée avec les hématies humaines et le pneumocoque XIV. Dans la plupart de leurs expériences, cependant, Wiener

et Herman n'ont pas observé de flocons mixtes et ils pensent à l'intervention de forces spécifiques dans le second stade de la réaction d'agglutination.

Malgré les intéressantes recherches de Wiener et Herman, le problème de la spécificité du second temps de la réaction d'agglutination spécifique laissait donc planer quelques doutes.

En ce qui concerne la réaction de précipitation spécifique, le problème semble avoir été résolu par Tayeau et Marquevielle [209] : pour exposer les recherches de ces auteurs, il ne nous semble pas superflu de rappeler les travaux de Hartley et de Linderström-Lang et Schmidt : on sait qu'un immunsérum précipitant privé de ses lipides perd la propriété de précipiter lorsqu'on le met en présence de son antigène [85]. Il a cependant conservé la propriété de se combiner à cet antigène. Tayeau et Marquevielle [128] expliquent ainsi l'absence de la seconde phase : l'enlèvement des lipides de l'immunsérum a modifié l'équilibre des forces; celles-ci se trouvent en faveur de l'hydrophilie et l'agrégation, reliée à la prédominance relative des groupements hydrophobes, est de ce fait considérablement diminuée. Bien plus, lorsqu'une certaine proportion de l'immunsérum mis en jeu a été préalablement délipidée, la floculation du système se trouve inhibée. Cette constatation s'explique lorsque l'on considère qu'il se forme des agrégats contenant à la fois l'anticorps normal et l'anticorps « délipidé ». Lorsque ce dernier est en trop grande proportion, les portions hydrophobes existent en trop petit nombre pour produire des agrégats suffisamment volumineux pour précipiter. En faisant varier les proportions relatives de sérum normal et de sérum délipidé, on trouve tous les intermédiaires entre la précipitation normale et l'inhibition (absence de précipitation, précipitation tardive, précipitation nettement retardée... précipitation normale) (Tayeau et Marquevielle).

L'addition au milieu (toxine diphtérique - sérum antidiph-

térique de cheval) soit de sérum normal (de la même espèce ou d'une espèce différente), soit d'immunsérum non homologue délipidé (sérum antitétanique de cheval) même préalablement neutralisé par son antigène (toxine tétanique) n'amène, au contraire, aucune perturbation dans la floculation du système étudié. On peut donc conclure qu'il ne s'est pas formé d'agrégats mixtes qui auraient retardé ou même évité la précipitation et qui auraient constitué un argument en faveur de la non intervention des forces spécifiques.

Enfin, l'addition d'une petite quantité de sérum antidiphtérique de lapin délipidé et neutralisé par la toxine retarde considérablement la floculation du système toxine diphtérique - sérum antidiphtérique de cheval. Il s'est donc formé des agrégats mixtes dus aux forces spécifiques du « motif antidiphtérique », bien que l'origine zoologique des anticorps fut différente.

Tayeau et Marquevielle concluent donc à l'intervention des forces spécifiques dans la seconde phase de la réaction de précipitation antigène - anticorps.

Désirant résoudre le problème concernant la réaction d'agglutination et dissiper les doutes auxquels nous avons fait précédemment allusion, nous avons réalisé des essais comparables à ceux de Tayeau et Marquevielle. Nous ne pouvions pas, dans nos expériences, mettre en œuvre des immunsérums délipidés, leurs temps d'agglutination étant trop voisins des immunsérums normaux. Nous avons tourné la difficulté en « formolant » l'un des sérums, car nous avons constaté (voir p. 48) que le formol retardait considérablement l'agglutination.

Si, donc, on mélange deux systèmes agglutinants différents, dont l'anticorps de l'un a subi l'action du formol, chaque système agglutinera pour son propre compte comme s'il était seul, si le second temps est spécifique. Si, au contraire, le second temps de la réaction est purement

physicochimique, nous noterons un temps d'agglutination qui sera compris entre les temps d'agglutination de chaque système séparément (*).

Si, par ailleurs, nous mélangeons deux systèmes, dont l'anticorps de l'un a subi l'action du formol, mais donnant des réactions d'agglutination croisée, nous aurons alors un temps d'agglutination mixte si le second temps de la réaction relève de forces spécifiques.

Ce sont de tels essais que nous avons réalisés.

Première expérience. — Nous mettons en jeu un sérum de cheval antihématies de mouton auquel nous ajoutons un volume égal de formol au 1/20e; le mélange est porté à 37° pendant deux heures, puis il est dialysé contre de l'eau physiologique jusqu'au lendemain (élimination du formol).

Le mélange ainsi préparé, dilué au 1/1.600 et additionné d'un volume égal de la suspension d'hématies de mouton (à 2 p. 1.000), agglutine en cinq ou six heures.

Un tel système est alors mélangé avec le système bacille d'Eberth - antisérum de cheval qui, à la dilution mise en jeu (demi), agglutine en quinze minutes.

On s'aperçoit alors qu'après seize à vingt minutes, l'agglutination des bacilles se produit, et ce n'est qu'après six heures que les hématies agglutinent à leur tour. Chaque système a donc agglutiné pour son propre compte; des forces spécifiques interviennent donc dans le second temps.

Deuxième expérience. — Nous avons réalisé une seconde expérience comparable à la précédente, mais cette fois ce sont les deux systèmes suivants qui ont été mis en présence :

a) Bacilles paratyphiques A - antisérum de cheval (1/16) traité par le formol;

b) Bacilles paratyphiques B - antisérum de cheval (1/2).

(*) Un des systèmes est traité par le formol, afin que les temps d'agglutination des deux systèmes soient les plus éloignés possible.

Le premier système pris séparément agglutine en une heure vingt-huit minutes; le second entre seize minutes et vingt minutes.

Le mélange des deux systèmes montre l'apparition, après une vingtaine de minutes, d'agglutinats de bactéries. Concluons donc que le système « formolé » n'a pas empêché la floculation, dans le temps normal, du système non « formolé ». Cet essai apporte un argument au caractère spécifique du second temps de la réaction.

Troisième expérience. — Nous réalisons une expérience du même type avec exclusivement des bactéries comme antigène et nous utilisons les deux systèmes suivants :

a) Sérum de cheval antityphique : 0,1 cm³; suspension de bacille typhique : 0,9 cm³.

Ce mélange, laissé deux heures au bain-marie à 37° puis à la température ambiante, amène l'agglutination en dix-sept heures (agglutination O).

b) Sérum de cheval antiparatyphique B « formolé » (*) : 0,1 cm³; suspension de bacille paratyphique B : 0,9 cm³ (agglutination O).

Ce mélange, traité dans les mêmes conditions, agglutine en vingt-cinq heures. Le mélange des deux systèmes présente l'agglutination après dix-sept heures : le premier système a floculé pour son propre compte, et l'autre ne l'a nullement gêné.

Quatrième expérience. — Dans cet essai, nous mélangeons deux systèmes présentant le même antigène. Les mélanges suivants sont réalisés :

a) Sérum de lapin antihématies de mouton au 1/32 : 0,1 cm³; suspension d'hématies de mouton à 2 p. 1.000 : 0,1 cm³.

Ce système agglutine en trois minutes.

(*) Le sérum est additionné d'un volume égal de formol à 2 p. 100 et laissé une demi-heure au bain-marie à 37°.

b) Sérum de cheval antihématies de mouton traité par le formol (dilution à 1 p. 1.600) : 0,1 cm³; suspension d'hématies de mouton à 2 p. 1.000 : 0,1 cm³.

Ce système agglutine en soixante minutes.

Si l'on mélange les deux systèmes, on observe une agglutination massive en un temps mixte, à savoir : six minutes et demie.

Cette expérience est complétée par une autre dans laquelle les sérums sont utilisés à une plus grande dilution :

a) Sérum de lapin antihématies de mouton au 1/64 : 0,1 cm³; suspension d'hématies de mouton à 2 p. 1.000 : 0,1 cm³.

Ce système agglutine en douze minutes.

b) Sérum de cheval antihématies de mouton traité par le formol (dilution à 1 p. 1.600) (*) : 0,05 cm³; suspension d'hématies de mouton à 2 p. 1.000 : 0,05 cm³.

Ce système agglutine en soixante minutes.

Le mélange des deux systèmes présente une agglutination massive en vingt-cinq minutes, temps mixte entre ceux des deux systèmes mis en présence.

Cinquième expérience. — Dans cette dernière expérience, nous utilisons comme antigène des bactéries : suspension de *S. typhi* pour le premier système, et de *S. gallinarum* pour le second. Cependant, il existe entre les deux une forte réaction croisée (puisque sur le tableau de KAUFFMANN ils ont les mêmes antigènes O).

Voici les systèmes étudiés :

a) Sérum antityphique O : 0,1 cm³; suspension de bacille typhique : 0,9 cm³.

Laissé deux heures au bain-marie à 37° et ensuite à la température du laboratoire, ce mélange agglutine en dix-sept heures.

(*) Le sérum de cheval est traité par un volume égal de formol à 5 p. 100 (une heure à 37°).

b) Sérum antigallinarum traité par le formol : 0,1 cm³;
suspension de *gallinarum* : 0,9 cm³.

Traité comme précédemment, ce système agglutine en vingt et une heures.

Si nous mélangeons les deux systèmes qui, rappelons-le, présentent une réaction croisée, l'agglutination s'effectue en dix-neuf heures, temps mixte.

CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

Mettant en œuvre une technique nouvelle, nous avons démontré que la seconde phase de la réaction d'agglutination fait intervenir les forces spécifiques.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons abordé notre travail par une étude historique et critique des diverses recherches concernant la réaction d'agglutination spécifique. Nous avons insisté particulièrement sur les théories cherchant à expliquer la réaction antigène - anticorps et sur la notion d'avidité des anticorps, dont la méconnaissance mène bien souvent à des interprétations erronées.

Nous avons étudié ensuite l'action exercée par diverses substances sur les propriétés agglutinantes des anticorps et des antigènes. Les résultats de nos essais amènent les conclusions suivantes :

Un anticorps de lapin, traité par la ninhydrine ou le β-naphto-quinone-4-sulfonate, agglutine beaucoup plus rapidement l'antigène correspondant. Si l'anticorps provient du cheval ou de l'homme, on observe le phénomène inverse.

Le carbowax 6.000 possède la propriété d'activer l'agglutination, et cela quelle que soit l'origine de l'anticorps étudié.

Les anticorps agglutinants traités par le formol, le monobromacétate, l'alloxane, etc., agglutinent beaucoup moins rapidement leur antigène qu'avant le traitement.

Ces observations sont tout à fait parallèles à celles qui ont été faites à propos de la réaction de précipitation spécifique. Cette constatation élimine dès lors toute théorie cherchant à expliquer l'action de ces divers adjuvants par des modifications de solubilité, dont le rôle est minime dans

la réaction d'agglutination. Ces divers adjuvants agissent surtout en modifiant l'avidité des anticorps.

L'action sur l'antigène s'avère très réduite.

Nous avons confirmé ce résultat au cours d'une étude mettant en œuvre l'hémagglutination indirecte.

Nous avons étudié ensuite le rôle exercé par les lipides de l'immunsérum sur la réaction d'agglutination : nous avons montré que si l'immunsérum agglutinant mis en jeu a subi la délipidation, l'agglutination s'effectue plus lentement. Nous avons expliqué ce phénomène en nous basant sur les recherches concernant le rôle des lipides dans la réaction de précipitation spécifique.

Mettant en œuvre une technique personnelle et utilisant des systèmes immunologiques variés, nous avons démontré que la seconde phase de la réaction d'agglutination spécifique exigeait, contrairement à l'opinion de Bordet, l'intervention de forces spécifiques.

Toutes ces recherches, qui démontrent le parallélisme étroit entre la réaction d'agglutination et la réaction de précipitation, apportent de nouveaux arguments à la conception unitaire des anticorps.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abramson, H. A., *Nature*, 1935, **135**, 995.
2. Adnot, A., Thèse Méd., Strasbourg, 1931.
3. Anthadse, V., *Ann. Inst. Pasteur*, 1930, **45**, 203.
4. Armengo, A. & Massons, J. M., *Farmacoterap. actual.*, 1948, **5**, 601.
5. Arrhenius, S. & Madsen, T., *Z. physik. Chem.*, 1903, **44**, 6.
6. Aubel-Lesure, G., *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144**, 472.
7. Aubel-Lesure, G., *Ann. Pharm. franç.*, 1951, **9**, 525.
8. Baivy, A., *C. R. Soc. Biol.*, 1926, **95**, 737.
9. Baivy, A. & Bruynoghe, R., *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **91**, 381.
10. Banks, T. E., Francis, G. E., Mulligan, W. & Wormall, A., *Nature*, 1950, **165**, 111.
11. Banks, T. E., Francis, G. E., Mulligan, W. & Wormall, A., *Biochem. Journ.*, 1951, **48**, 180.
12. Barhami, A., *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 726.
13. Barnes, D. W. H. & Loutit, J. F., *Quart. Journ. exper. Physiol.*, 1947, **34**, 69.
14. Berger, E., *Experentia*, 1952, **8**, 227.
15. Bessemans, A., *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **87**, 401.
16. Bessis, M. & Bricka, M., *Rev. Hemat.*, 1950, **5**, 396.
17. Bier, O. G., *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **108**, 511.
18. Bier, O. & Nelson Planet, *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **116**, 1125.
19. Black, R. H., *Australian Journ. exp. Biol. Med. Sc.*, 1945, **23**, 323.
20. Blix, G. & Pedersen, K. O., *Acta Chem. Scand.*, 1947, **1**, 511.
21. Bogomasova, V. P., *Chem. Zentr.*, 1937, **1**, 3818.
22. Boivin, A., *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, 1947, **7**, 63.
23. Bordet, J., *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, **13**, 225.
24. Bordet, J., *Ann. Inst. Pasteur*, 1899, **13**, 272.
25. Bordet, J., Traité de l'immunité et des maladies infectieuses, 1 vol. Masson & C^ie^, édit., Paris, 1939.
26. Bordet, P. & Chomé, N., *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, **79**, 532.
27. Borduas, A. G. & Grabar, P., *Ann. Inst. Pasteur*, 1953, **84**, 903.
28. Bori, P. V., *Boll. Ist. Sier. Milan.*, 1935, **12**, 1092.

29. Boyd, W. C., *Journ. exp. Med.*, 1946, **83,** 221.
30. Boyd, W. C., *Journ. exp. Med.*, 1946, **83,** 401.
31. Boyd, W. C., Fundamentals of immunology, 1 vol. Interscience, édit., New-York, 1947.
32. Boyd, W. C. & Hooker, S. B., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1939, **39,** 491.
33. Braun, H., *Z. Immunitätsf.*, 1933, **78,** 46.
34. Breinl, F. & Haurowitz, F., *Z. Immunitätsf.*, 1932, **77,** 176.
35. Bricout, V., *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141,** 685.
36. Chow, B. F. & Goebel, W. F., *Journ. exp. Med.*, 1935, **62,** 179.
37. Clementi, A., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1933, **8,** 882.
38. Clementi, A., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1941, **16,** 515.
39. Clementi, A., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1941, **16,** 519.
40. Clementi, A. & Condorelli, F., *Biochem. Z.*, 1933, **266,** 221.
41. Clemmesen, J. & Andersen, E. K., *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, 1948, **25,** 611.
42. Cohen, S. S., *Journ. Biol. Chem.*, 1947, **168,** 511.
43. Coppo, M., *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **118,** 1307, et 1935, **119,** 175.
44. Da Costa Cruz, J., *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **100,** 949.
45. Delage, B., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1942, **24,** 1438.
46. Delsal, J. L., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1944, **26,** 99.
47. Dervichian, D., *Journ. Chim. Phys.*, 1941, **38,** 59.
48. Dervichian, D. & Grabar, P., *C. R. Acad. Sc.*, 1942, **214,** 195.
49. Douglas, S. R. & Dudley, H. W., cité par Hartley [85].
50. Ducceschi, V. & Cardin, A., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1933, **8,** 807.
51. Ducceschi, V. & Cardin, A., *Arch. Ital. Biol.*, 1933, **89,** 115.
52. Dujarric de la Rivière, R., *Bull. Acad. Méd.*, 1946, **130,** 271.
53. Duncan, J. T., *Brit. Journ. exp. Med.*, 1932, **13,** 498.
54. Eagle, H., *Journ. exp. Med.*, 1938, **67,** 495.
55. Eggerth, A. H., *Journ. Immunol.*, 1941, **42,** 199.
56. Eggerth, A. H., *Journ. Immunol.*, 1942, **45,** 303.
57. Eichbaum, F. W., *Mem. Inst. Butantan* (Sao Paulo), 1946, **19,** 127.
58. Eisen, H. N. & Karusch, F., *Journ. Allergy*, 1949, **20,** 393, et *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1949, **71,** 363.
59. Eisler, M. von & Howard, A., *Z. Immunitätsf.*, 1936, **88,** 163.
60. Eisler, M. von & Löwenstein, E., *Zentr. Bakt.*, 1912, **63,** 261.
61. Erlich, P., Studies on Immunity, 1 vol. John Wiley and Sons, edit., New-York, 1906.
62. Faure, F., Thèse Univ. (Sciences), Bordeaux, 1953.
63. Filitti-Wurmser, S. & Jacquot-Armand, Y., *Arch. Sc., Physiol.*, 1947, **1,** 151.

64. Filitti - Wurmser, S. & Jacquot - Armand, Y., *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 577.
65. Filitti - Wurmser, S., Jacquot - Armand, Y. & Wurmser, R., *Journ. Chim. Phys.*, 1950, **47**, 419.
66. Formaggio, T. G., *Boll. Ist. sieroterap. Milan.*, 1950, **29**, 290.
67. Frazer, W. T. & Calvin, M., *Journ. Immunol.*, 1952, **68**, 335.
68. Gardner, S., *Z. Immunitätsf.*, 1933, **80**, 493.
69. Genevois, L. & Mandillon, G., *Bull. Soc. Chim.*, 1935, 683.
70. Ghosh, B. V., Chandhuri, N. K. R. & Kundu, M. C., *Ann. Biochem. exp. Med.*, 1941, **1**, 175.
71. Gitlin, D. & Edelhoch, H., *Journ. Immunol.*, 1951, **66**, 67.
72. Glenny, A. T. & Barr, M., *Journ. Path. Bact.*, 1932, **35**, 91.
73. Golberg, R. J., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1952, **79**, 5715.
74. Goldberg, R. J. & Campbell, D. H., *Journ. Immunol.*, 1951, **66**, 79.
75. Gonzales, J. O., *Journ. Infections Diseases*, 1946, **79**, 221.
76. Gonzales, J. O. & Montilla, E., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1944, **56**, 169.
77. Goudemand, M., *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144**, 702.
78. Grabar, P., *Journ. Méd. Bordeaux*, 1953, **130**, 323.
79. Grabar, P. & Dervichian, D., *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, **68**, 74.
80. Green, R. H., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1948, **67**, 483.
81. Green, R. H. & Wolley, D. W., *Journ. exp. Med.*, 1947, **86**, 55.
82. Greiner, *Z. Immunitätsforsch*, 1951, **19**, 134.
83. Gros, F., Macheboeuf, M., Rybak, B. & Lacaille, P., *Ann. Inst. Pasteur*, 1949, **77**, 246.
84. Hardy, W. B. & Gardiner, S., *Journ. Physiol.*, 1910, **40**, 68.
85. Hartley, P., *Brit. Journ. exp. Path.*, 1925, **6**, 180.
86. Haupt, H., *Berlin Münch. tierärztl. Wochschr.*, 1942, **12**, 181.
87. Heidelberger, M., *Bact. Rev.*, 1939, **3**, 49.
88. Heidelberger, M., Grabar, P. & Treffers, H. P., *Journ. exp. Med.*, 1938, **68**, 913.
89. Heidelberger, M. & Kendall, F. E., *Journ. exp. Med.*, 1935, **61**, 559 et 563.
90. Heidelberger, M. & Pedersen, K., *Journ. exp. Med.*, 1937, **65**, 393.
91. Hershey, A. D., *Journ. Immunol.*, 1942, **42**, 455.
92. Hewitt, F., *Biochem. Journ.*, 1927, **21**, 216.
93. Hirosi, Ogonuki & Tadao Miyata, *Kitasato Arch. exp. Med.*, 1940, **17**, 74.
94. Hirsch, W., *Journ. Path. Bact.*, 1937, **44**, 349.
95. Hofer, E., *Acta Biol. Exp.*, 1938, **12**, 70.
96. Hooker, S. B. & Boyd, W. C., *Journ. Immunol.*, 1937, **33**, 337.
97. Hooker, S. B. & Boyd, W. C., *Journ. Immunol.*, 1941, **42**, 419.

98. Horsfall, F. L. Jr. & Goodner, K., *Journ. exp. Med.*, 1935, **62,** 485.
99. Hubinont, P. O., *Nature*, 1948, **161,** 642.
100. Hubinont, P. O., *Nature*, 1951, **167,** 4242.
101. Hummel, K., Witzenhausen, R. & Pohl, G., *Arch. Hyg. Bakt.*, 1951, **134,** 216.
102. Ivanov, K., *Z. Hyg. Infectionskrankh.*, 1936, **118,** 197.
103. Jeney & Vaczi, L., *Z. Immunitätsf.*, 1942, **102,** 332.
104. Jenkins, C. E., *Brit. Journ. exp. Path.*, 1946, **27,** 127.
105. Jones, F. S. & Orcutt, M., *Journ. Immunol.*, 1934, **27,** 215.
106. Kabat, E. A. & Mayer, M., Experimental immunochemistry, 1 vol. Thomas, édit., Sprinfield, 1947.
107. Kituro Kurokawa, *Tohoku Journ. exp. Med.*, 1936, **36,** 523.
108. Klopstock, A. & Neter, E., *Biochem. Z.*, 1933, **261,** 207.
109. Kossovitch, N. & Adra, Ch., *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139,** 1082.
110. Kossovitch, N. & Adra, Ch., *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140,** 3.
111. Kossovitch, N. & Canat, J., *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135,** 1100.
112. Krieger, V. I., *Med. Journ. Austral.*, 1949, **1,** 233.
113. Krueger, R. C. & Heidelberger, M., *Journ. exp. Med.*, 1950, **92,** 383.
114. Krüger, V., *Arch. Hyg. Bakt.*, 1941, **127,** 32.
115. Kuhns, W. J. & Bailey, A., *Amer. Journ. Clin. Path.*, 1950, **20,** 1067.
116. Lajmanovich, S. & Mittelman, N., *Revue Inst. Bact.*, « Carlos G. Malbran » (Buenos-Aires), 1941, **12,** 320.
117. Lambin, S., Bazin, S. & Salas, A., *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, **81,** 572.
118. Landsteiner, K., The specificity of serological reactions, 1 vol. Harvard Univ. Press, édit., Cambridge, 1945.
119. Landsteiner, K. & Van den Scheer, J., *Journ. exp. Med.*, 1932, **52,** 399.
120. Landsteiner, K. & Welecki, S., *Z. Immunitätsf.*, 1911, **8,** 397.
121. Lavergne, V. de, Fernier, L. & Lévy, R., *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **100,** 113.
122. Lasseur, P. & Renaux, M. A., *Trav. Labo. Microbiol., Faculté Pharm. Nancy*, 1934, **7,** 219.
123. Lecomte du Noüy, P., Congrès d'Immunologie (Convegno Volta), Roma, 1933.
124. Leonardi, P., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1948, **24,** 1217.
125. Levin, Y. E., *Arch. Sc. Biol., U. S. S. R.*, 1937, **45,** 163.
126. Lewi, S., *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146,** 1706.
127. Lewi, S., *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146,** 1852.
128. Linderström-Lang, K. & Schmidt, S., *C. R. Lab. Carlsberg*, 1930, **18,** 1.
129. Linz, R. & Lecocq, E., *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144,** 305.
130. Loiseleur, J., *C. R. Soc. Biol.*, 1942, **136,** 435.

131. Loiseleur, J., *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, **78,** 1 et 51, et *Journ. Méd. Bordeaux*, 1952, **130,** 264.
132. Lubinski, H. & Portnuff, J. C., *Journ. Lab. Clin. Med.*, 1947, **32,** 178.
133. Lumière, A. & Meyer, P., *C. R. Soc. Biol.*, 1934, **115,** 1698.
134. Machebœuf, M., L'état des lipides dans la matière vivante. Les cénapses et leur importance biologique, 1 vol. Hermann, édit., Paris, 1937.
135. Machebœuf, M., *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, 1939, **2,** 117.
136. Machebœuf, M., *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, 1948, **8,** 245.
137. Machebœuf, M. & Faure, M., *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, 1942, **3,** 134.
138. Machebœuf, M. & Tayeau, F., *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **129,** 1184.
139. Machebœuf, M. & Viscontini, M., *Ann. Inst. Pasteur*, 1942, **68,** 495.
140. Malaguzzi & Valeri, O., *Soc. Intern. Microbiol. Sez. Ital.*, 1935, **7,** 2577.
141. Marrack, J. R., The chemistry of antigens and antibodies, 1 vol. His Majesty's stationnary office, édit., London, 1938.
142. Marrack, J. R. & Hoch, *in* Marrack, J. R., 1st Congress Biochem., Cambridge, 1949, abstr., 449.
143. Matson, G. A. & Fenning, C., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1947, **66,** 364.
144. Merrill, M. H. & Fleisher, M. S., *Journ. Gen. Physiol.*, 1932, **16,** 243.
145. Michaelis, L. & Fleishmann, P., *Biochem. Z.*, 1907, **3,** 425.
146. Miles, A. A., *Brit. Journ. exp. Path.*, 1933, **14,** 43.
147. Milzer, A. & Nathan, S., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1947, **66,** 619.
148. Mudd, S. & Anderson, T. F., *Journ. Immunol.*, 1941, **42,** 251.
149. Mudd, S. & Joffe, E. W., *Journ. gen. Physiol.*, 1933, **16,** 947.
150. Murray, J., Lathe, G. H. & Clark, E. C., *Brit. Journ. exp. Path.*, 1951, **31,** 566.
151. Neil, J. M. & Abahams, I., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1951, **78,** 537.
152. Nema, *C. R. Soc. Biol.*, 1923, **88,** 941.
153. Neter, E. & Zalemski, N. J., *Journ. Bacteriol.*, 1953, **66,** 424.
154. Neter, E. & Zalemski, N. J., *Journ. Immunol.*, 1953, **71,** 145.
155. Neuzil, E., Thèse Méd., Bordeaux, 1948.
156. Neuzil, E., IIe Congrès International de Biochimie, Paris, 1952, résumés p. 400.
157. Neuzil, E. & Breton, J. C., *C. R. Soc. Biol.*, 1953, **147,** 686.
158. Neuzil, E., Marquevielle, J. & Tayeau, F., *C. R. Acad. Sc.*, 1950, **230,** 489.
159. Neuzil, E. & Pautrizel, R., *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141,** 186 et 188.

160. Neuzil, E., Pautrizel, R. & Marquevielle, J., *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **143**, 1185.
161. Nicolas & Panisset, *C. R. Soc. Biol.*, 1922, **86**, 67.
162. Northrop, J. H. & de Kruif, P. H., *Journ. gen. Physiol.*, 1922, **4**, 639.
163. Oikawa, K., *Japan Med. Journ.*, 1948, **8**, 494.
164. Oikawa Hiyoshi, *Japan Med. Journ.*, 1949, **2**, 63.
165. Olitzki, L., Shelubski, M. & Efrati, E., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1947, **64**, 258.
166. Olivo, R., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1946, **22**, 994.
167. Opie, E. L., *Journ. Immunol.*, 1927, **8**, 19.
168. Ottensover, F. & Lanzinger, A., *Z. Immunitätsf.*, 1934, **81**, 354.
169. Paille, R. & Hars, E., *C. R. Soc. Biol.*, 1950, **144**, 1512.
170. Pappenheimer, A. M. Jr., Lundgren, H. P. & Williams, J. W., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1939, **61**, 533.
171. Patterson, K. O., *Science*, 1945, **102**, 354.
172. Pauling, L., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1940, **62**, 2640.
173. Pauling, L., *Endeavour*, 1948, **7**, 43.
174. Pautrizel, R., Thèse Sc., Bordeaux, 1948.
175. Pautrizel, R. & Tayeau, F., *Journ. Méd. Bordeaux*, 1948, **125**, 550.
176. Perez, J. J. & Sergent, C., *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 415.
177. Piettre, M. & Vila, A., *C. R. Acad. Sc.*, 1920, **170**, 1466.
178. Pillemer, L., *Annal. New-York Acad. Sc.*, 1946, **46**, 915.
179. Platt, A. E., *Australian. Journ. exp. Biol. Med. Sc.*, 1938, **16**, 275.
180. Platt, A. E., *Australian Journ. exp. Biol. Med. Sc.*, 1941, **19**, 57.
181. Ponder, E., Bessis, M., Bricka, M. & Gorius, J., *C. R. Acad. Sc.*, 1952, **234**, 2645.
182. Ponder, R. & Ponder, E., *Nature*, 1952, **170**, 928.
183. Pons, R., *Ann. Inst. Pasteur*, 1941, **67**, 383.
184. Pons, R., *Rev. Immunol.*, 1942, **7**, 222.
185. Pressmann, D., Bryden, S. H. & Pauling, L., *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1948, **70**, 1352.
186. Rigoni, M., *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1933, **8**, 1176.
187. Rochaix, A., Sedallian, P. & Clavel, M^me^, *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **108**, 84.
188. Romano Severi, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1932, **7**, 888.
189. Rubini, J. R. & Stahman, M. A., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1951, **76**, 659.
190. Ruhemann, S., *Journ. Chem. Soc.*, 1911, **99**, 1486.
191. Saias, E., Thèse Pharm., Paris, 1942.
192. Sautter, V. & Lepine, P., *Ann. Inst. Pasteur*, 1948, **74**, 261.
193. Schmidt, S., *Ann. Inst. Pasteur*, 1928, **42**, 63.

194. Schönberg, A., Moubasher, R. & Mostafa, A., *Journ. Chem. Soc.*, 1948, 176.
195. Schramm, G. & Friedrich-Freksa, M., *Z. physiol. Chem.*, 1941, **270**, 233.
196. Seisen Sai, *Proc. Japan Soc. Med.*, 1939, **67**, 23.
197. Seisuke Numasaki, *Proc. Japan Soc. Med.*, 1939, **23**, 72.
198. Sulzer, R., *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, 1950, **8**, 351.
199. Tayeau, F., *C. R. Acad. Sc.*, 1941, **212**, 575; *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1944, **26**, 287; *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **138**, 63.
200. Tayeau, F., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1944, **26**, 293.
201. Tayeau, F., *C. R. Soc. Biol.*, 1944, **158**, 700.
202. Tayeau, F., *Exp. Ann. Biochim., méd.*, 1954, **14**, 129.
203. Tayeau, F. & Faure, F., *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1953, **35**, 1325.
204. Tayeau, F., Faure, F., Neuzil, E. & Pautrizel, R., *C. R. Acad. Sc.*, 1949, **229**, 1038.
205. Tayeau, F., Faure, F., Neuzil, E. & Pautrizel, R., I^{er} Intern. Congr. Biochem., Cambridge, 1949, p. 455.
206. Tayeau, F., Faure, F., Neuzil, E. & Pautrizel, R., *Disc. Faraday Soc.*, 1949, **6**, 106.
207. Tayeau, F., Faure, F., Neuzil, E. & Pautrizel, R., *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **144**, 409.
208. Tayeau, F. & Marquevielle, J., II^{e} Congrès Biochim., Paris, 1952, p. 407.
209. Tayeau, F. & Marquevielle, J., *C. R. Acad. Sc.*, 1952, **234**, 901.
210. Tayeau, F. & Neuzil, E., *C. R. Soc. Biol.*, 1946, **140**, 509.
211. Tayeau, F. & Neuzil, E., *Journ. Méd. Bordeaux*, 1953, **130**, 313.
212. Tayeau, F., Neuzil, E. & Marquevielle, J., Travail inédit.
214. Tayeau, F., Neuzil, E. & Pautrizel, R., *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 191.
215. Tayeau, F. & Pautrizel, R., *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 221.
216. Tayeau, F., Pautrizel, R. & Szersnovicz-Léglise, F., II^{e} Congrès Intern. Biochim., Paris, 1952, p. 408.
217. Tayeau, F. & Pissot, J., Travail inédit.
218. Tayeau, F., Régnier-Marquevielle, S. & Marquevielle, J., *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 1954, sous presse.
219. Thacher Clark, H., *Journ. Chem. Soc.*, 1910, **97**, 416.
220. Thjötta, Th. & Jonson, J., *Acta Path. Microbiol. Scand.*, 1949, **26**, 326.
221. Topley, W. W. C., Wilson, J. & Duncan, J. T., *Brit. J. exp. Path.*, 1935, **16**, 116.
222. Trensz, F., *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 1935, **13**, 513.
223. Tyler, A., *Journ. Immunol.*, 1945, **51**, 157.
224. Vacirca, F., *Boll. Ist. Sieroterap. Milan*, 1945, **24**, 147.
225. Van den Schrieck, H. G. & Van Goidsenhoven, P. G., *Rev. Belg. Path. Méd. exp.*, 1950, **20**, 188.

226. Vendramini, R., *Chem. Z.*, 1942, **2**, 921.
227. Vicente de Torregrosa, M., *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1945, **58**, 329.
228. Walsh, R. J., *Med. Journ. Austral.*, 1948, **1**, 793.
229. Warnecke, B., *Z. Immunitätsf.*, 1951, **109**, 40.
230. Wheeler, W. E., Luhby, A. L. & Scholl, M. L. L., *Journ. Immunol.*, 1950, **65**, 39.
231. Wiener, A. S., *Journ. Amer. Clin. Path.*, 1945, **15**, 106.
232. Wiener, A. S. & Heman, M., *Journ. Immunol.*, 1939, **36**, 255.
233. Winkler, A. & Westphal, O., *Z. Immunitätsf.*, 1944, **105**, 154.
234. Wolf Wagner, H. & Bredehorst, H., *Naturwissenschaften*, 1951, **38**, 529.
235. Wurmser, R., *Pubb. Stuz. Zool. Napoli*, 1949, **21**, suppl. 22.
236. Wurmser, R. & Filitti-Wurmser, S., *Biochem. Biophys. Acta*, 1950, **4**, 238.
237. Wurmser, R., Filitti-Wurmser, S. & Jacquot-Armand, Y., I[st] Congr. Biochem., Cambridge, 1949, p. 461.
238. Yankovski, V. D. & Krechetova, N. P., *Journ. Med. Ukraine*, 1937, **7**, 169.
239. Yaremenko, G. V., *Lab. Prakt. (U. S. S. R.)*, 1937, n° 11, 19.
240. Young, E. G., *Proc. Roy. Soc.*, série B, 1922, **93**, 15.
241. Zinsser, H., Enders, J. F. & Fothergill, L. D., Immunity principles and applications in Medicine and Public Health, 1 vol. Mac Millan & C[ie], édit., New-York, 1930.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

Introduction 1

PREMIÈRE PARTIE

Quelques rappels sur les antigènes, les anticorps et la réaction d'agglutination.

Chapitre premier. — Généralités sur les antigènes, les divers types d'anticorps et les réactions antigène-anticorps 7

I. — Les antigènes 7

II. — Les anticorps 8

III. — Les réactions antigène-anticorps 9

Chapitre II. — La réaction d'agglutination spécifique 12

I. — Historique 12

II. — Facteurs influençant la réaction d'agglutination .. 13

III. — Le phénomène de zone 18

IV. — Mécanisme du phénomène d'agglutination 19

V. — Théories diverses sur le mécanisme de la réaction antigène-anticorps 22

VI. — L'agglutination non spécifique 36

Chapitre III. — L'avidité des agglutinines 40

Facteurs influençant l'avidité des anticorps 41

Pages

DEUXIÈME PARTIE

Recherches expérimentales.

Chapitre premier. — Etude de l'action de divers réactifs sur les anticorps agglutinants 47

I. — Action du formol sur les anticorps agglutinants et sur les antigènes correspondants 48

II. — Action du monobromacétate sur les anticorps agglutinants et sur les antigènes correspondants. 55

III. — Action de la ninhydrine sur les anticorps agglutinants et sur les antigènes correspondants 61

IV. — Action du β-naphto-quinone-4-sulfonate sur les anticorps agglutinants et sur les antigènes correspondants 69

V. — Action de l'alloxane sur les anticorps agglutinants. 76

VI. — Action de l'isatine sur les anticorps agglutinants. 78

VII. — Action des polymères sur les anticorps agglutinants 80

VIII. — Conclusions générales du chapitre premier 86

Chapitre II. — Rôle des lipides sériques dans la réaction d'agglutination spécifique 87

Conclusions générales du chapitre II 94

Chapitre III. — Recherches sur l'agglutinine dite « incomplète » 95

Conclusions du chapitre III 98

Chapitre IV. — Recherches sur la spécificité du second temps de la réaction d'agglutination 99

Conclusions du chapitre IV 106

Conclusions générales 107

Bibliographie 109

Bordeaux. — Impr. E. Drouillard, 3, place de la Victoire.